



RAFAEL CARVALHO DO LAGO

**DEVELOPMENT OF STARCH-BASED
BIONANOCOMPOSITES REINFORCED WITH
NANOFIBRILS OF OAT AND WHEAT INDUSTRY WASTES
AND THEIR POST-HARVEST APPLICATION IN FRUITS
AND VEGETABLES**

LAVRAS – MG

2021

RAFAEL CARVALHO DO LAGO

**DEVELOPMENT OF STARCH-BASED BIONANOCOMPOSITES REINFORCED
WITH NANOFIBRILS OF OAT AND WHEAT INDUSTRY WASTES AND THEIR
POST-HARVEST APPLICATION IN FRUITS AND VEGETABLES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência e Tecnologia de Produtos de Origem Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Eduardo Valério de Barros Vilas Boas

Orientador

Prof^ª Dr^ª Elisângela Elena Nunes Carvalho

Co-orientadora

Prof. Dr. Gustavo Henrique Denzin Tonoli

Co-orientador

LAVRAS - MG

2021

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Lago, Rafael Carvalho do.

Development of starch-based bionanocomposites reinforced with nanofibrils of oat and wheat industry wastes and their post-harvest application in fruits and vegetables / Rafael Carvalho do Lago. - 2021.

231 p.

Orientador(a): Eduardo Valério de Barros Vilas Boas.

Coorientador(a): Elisângela Elena Nunes Carvalho, Gustavo Henrique Denzin Tonoli.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Nanotechnology. 2. Food Packaging. 3. Edible coating. I. de Barros Vilas Boas, Eduardo Valério. II. Nunes Carvalho, Elisângela Elena. III. Denzin Tonoli, Gustavo Henrique. IV. Título.

RAFAEL CARVALHO DO LAGO

**DEVELOPMENT OF STARCH-BASED BIONANOCOMPOSITES REINFORCED
WITH NANOFIBRILS OF OAT AND WHEAT INDUSTRY WASTES AND THEIR
POST-HARVEST APPLICATION IN FRUITS AND VEGETABLES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência e Tecnologia de Produtos de Origem Vegetal, para a obtenção do título de Doutor.

Aprovada em 20 de agosto de 2021.

Prof. Dr. Luiz José Rodrigues UFMT

Prof^a Dr^a Maressa Caldeira Morzelle UFMT

Prof^a Dr^a Elisângela Elena Nunes Carvalho UFLA

Dr. Edson Pablo da Silva CBA-Manaus/ Amazonas

Prof. Dr. Eduardo Valério de Barros Vilas Boas

Orientador

LAVRAS – MG

2021

Agradecimentos

A Deus, pelo dom da vida, pela saúde, por me permitir realizar meus sonhos e pelos planos maravilhosos que fez e continua fazendo, muitos dos quais demorei a compreender, mas hoje vejo que foi tudo perfeitamente encaixado.

À Universidade Federal de Lavras, por todas as oportunidades oferecidas ao longo dos anos em que aqui estive, pela disponibilização de infraestrutura e todo o investimento na qualidade do ensino e bem-estar dos alunos.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos (PPGCA), pela oportunidade de ingressar em um curso de excelência internacional, pelo incentivo à pesquisa e publicações em periódicos de alto fator de impacto, pelas capacitações ofertadas, pela concessão da bolsa de estudos e pela disponibilidade de recursos e pessoal que me permitiram realizar o trabalho e crescer profissionalmente.

Às agências de fomento, Capes, Cnpq e Fapemig, pelo apoio financeiro essencial à aquisição e manutenção de infraestrutura e suporte à pesquisa, indispensáveis para a realização desse trabalho. À Capes, ainda, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador, professor Eduardo Valério de Barros Vilas Boas, por todos os incontáveis ensinamentos passados durante esses dez anos de orientação, pela amizade, por todo apoio e paciência, pela infraestrutura disponibilizada, por depositar confiança em mim e por sempre me instigar a melhorar cada vez mais, o que me permitiu que desenvolvesse e crescesse profissionalmente e pessoalmente. Seu papel foi fundamental para a minha formação profissional.

À minha co-orientadora, professora Elisângela Elena Nunes Carvalho, por todo apoio profissional e pessoal ao longo desses anos, pelos ensinamentos passados, pelos conselhos, pelas oportunidades e pela grande amizade.

Ao co-orientador professor Gustavo Henrique Denzin Tonoli, por ter disponibilizado todo o espaço e infraestrutura necessários para realização do trabalho e pelo fundamental suporte fornecido em uma área totalmente nova para mim.

À minha esposa, Aline, minha maior apoiadora, minha maior incentivadora e meu porto seguro, por ter tido paciência comigo ao longo dessa difícil trajetória, por caminhar junto comigo e por estar sempre ao meu lado, independente das circunstâncias.

A meus pais e minha irmã, por sempre me incentivarem, mesmo à distância, por todo o amor e por todo orgulho depositado em mim.

A todos os colegas e amigos que fizeram parte do Laboratório de Pós-colheita de Frutas e Hortaliças ao longo do tempo que estive por lá, em especial à atual equipe, por toda ajuda nos experimentos, pelas trocas de experiência, por todos os maravilhosos momentos de convivência, que tornaram a jornada mais leve e prazerosa, sobretudo no momento da pandemia, repleto de inseguranças e incertezas.

Aos colegas do Laboratório de Nanotecnologia Florestal, Allan, Matheus, Maressa e Alisson, pelo apoio nas análises, pela cordialidade e prestatividade.

Ao Núcleo de Estudos em Tecnologia e Pós-colheita de Frutas e Hortaliças (NEPC), por toda experiência proporcionada ao longo de quatro anos, pelos ensinamentos, pelas oportunidades e pela convivência.

A todos os docentes do Departamento de Ciência dos Alimentos, os quais tive a oportunidade de conhecer ao longo desses anos, pelos ensinamentos passados, pela amizade e pela contribuição para a minha formação profissional e pessoal.

Aos técnicos e funcionários do Departamento de Ciência dos Alimentos, por todo apoio oferecido; ao pessoal dos serviços gerais pela amizade e pelos momentos de convivência; à técnica Creuza, que sempre nos acolheu como uma “mãe”, pela convivência e amizade.

MUITO OBRIGADO!

RESUMO GERAL

O crescente aumento na demanda por embalagens para alimentos, aliado ao esforço constante em se tentar reduzir os impactos ao meio ambiente, estimula o estudo acerca do desenvolvimento de novos materiais, que sejam biodegradáveis e que exibam propriedades semelhantes ou mesmo superiores às de polímeros tradicionais. Nesse contexto, o setor pós-colheita de frutas e hortaliças demanda novas tecnologias de preservação, eficazes na manutenção da qualidade e que sejam “amigas da natureza”. Esse estudo teve por objetivo desenvolver e caracterizar bionanocompósitos a base de amido de mandioca reforçados com nanofibrilas celulósicas obtidas das palhas de aveia e trigo e testar sua aplicação como revestimento comestível na pós-colheita de frutas e hortaliças, usando como modelos morangos íntegros e cenouras minimamente processadas. Teve-se que a adição de nanofibrilas promoveu melhoria nas propriedades mecânicas e de barreira dos bionanocompósito, pelo aumento da rigidez e diminuição da hidrofiliabilidade. Valores máximos de adição (30 – 50%) de nanofibrilas foram responsáveis pelos melhores desempenhos nos ensaios. Os bionanocompósitos elaborados foram testados como revestimento comestível no armazenamento refrigerado de morangos íntegros e cenouras minimamente processadas. Para os morangos, os revestimentos foram eficazes em retardar os eventos relacionados à senescência, como o escurecimento da superfície, o amolecimento dos tecidos, o crescimento de fungos e a síntese de antocianinas, vanilina e resveratrol. Já para as cenouras, observou-se menor incidência do esbranquecimento da superfície e menor tendência à lignificação quando revestidas com os bionanocompósitos. Confirmou-se a viabilidade de obtenção de nanofibrilas celulósicas a partir de palhas de aveia e trigo, bem como sua efetividade na melhoria das propriedades mecânicas e de barreira de bionanocompósitos a base de amido de mandioca. Os bionanocompósitos elaborados foram eficazes como revestimento comestível na manutenção da qualidade pós-colheita de morangos íntegros e cenouras minimamente processadas. Os bionanocompósitos elaborados podem ser utilizados em futuros estudos, que explorem diferentes metodologias de aplicação e diferentes matrizes alimentares, a fim de otimizar suas propriedades e expandir as possibilidades de aplicação.

Palavras-chave: Nanotecnologia. Embalagens para alimentos. *Avena sativa*. *Triticum* spp. *Fragaria x ananassa*. *Dacus carota*. Processamento mínimo. Revestimento comestível.

GENERAL ABSTRACT

The increasing demand for food packaging, coupled with the constant effort in trying to reduce the impact on the environment, stimulates the study about the development of new materials, which are biodegradable and exhibit properties similar or even superior to those of traditional polymers. In this context, the fruit and vegetable post-harvest sector demands new preservation technologies that are effective in maintaining quality and that are "eco-friendly". This study aimed to develop and characterize cassava starch-based bionanocomposites reinforced with cellulose nanofibrils obtained from oat and wheat straws and test their application as edible coating in post-harvest fruits and vegetables, using as models whole strawberries and fresh cut carrots. It was found that the addition of nanofibrils promoted improvement in the mechanical and barrier properties of the bionanocomposite, by increasing stiffness and decreasing hydrophilicity. Maximum addition values (30 - 50%) of nanofibrils were responsible for the best performances in the tests. The elaborated bionanocomposites were tested as edible coating in the cold storage of whole strawberries and fresh cut carrots. For strawberries, the coatings were effective in delaying the events related to senescence, such as surface darkening, tissue softening, fungal growth and synthesis of anthocyanins, vanillin and resveratrol. For carrots, a lower incidence of surface whitening and a lower tendency to lignification was observed when coated with the bionanocomposites. The feasibility of obtaining cellulosic nanofibrils from oat and wheat straws was confirmed, as well as their effectiveness in improving the mechanical and barrier properties of cassava starch-based bionanocomposites. The elaborated bionanocomposites were effective as edible coating in the maintenance of postharvest quality of whole strawberries and fresh cut carrots. The elaborated bionanocomposites can be used in future studies, which explore different application methodologies and different food matrices, in order to optimize their properties and expand the application possibilities.

Keywords: Nanotechnology. Food packaging. *Avena sativa*. *Triticum* spp. *Fragaria x ananassa*. *Dacus carota*. Minimal processing. Edible coating.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	10
1 INTRODUÇÃO	10
2 REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1 Embalagens para alimentos no contexto atual	12
2.2 Polímeros biodegradáveis	13
2.3 Nanofibrilas celulósicas	15
2.4 Utilização de subprodutos agroindustriais	17
2.4.1 Subprodutos da indústria de trigo	17
2.4.2 Subprodutos da indústria de aveia	18
2.5 Uso de embalagens biodegradáveis e coberturas comestíveis na conservação de frutas e hortaliças	19
2.6 Morango	21
2.7 Vegetais minimamente processados	23
2.7.1 Cenouras	24
3 CONSIDERAÇÕES GERAIS	26
REFERÊNCIAS	28
SEGUNDA PARTE: ARTIGOS	44
ARTIGO 1: Obtaining cellulosic nanofibrils from oat straw for biocomposite reinforcement: mechanical and barrier properties	44
ARTIGO 2: Addition of wheat straw nanofibrils to improve the mechanical and barrier properties of cassava starch-based bionanocomposites	78
ARTIGO 3: Aplicação de bionanocompósitos com coprodutos da indústria de aveia e trigo como revestimento comestível na manutenção da qualidade pós-colheita de morangos sob armazenamento refrigerado	127
ARTIGO 4: Bionanocompósitos a base de amido de mandioca reforçados com nanofibrilas celulósicas de palhas de aveia e trigo como revestimento comestível em cenouras minimamente processadas	178

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A demanda por embalagens para alimentos é cada vez mais crescente, tendo em vista as mudanças de comportamento dos consumidores, que têm aumentado a procura por serviços de *delivery* e compras pela Internet, sobretudo após o período de quarentena, imposto pela pandemia COVID-19, em todo mundo (FILHO *et al.*, 2021). Ao mesmo tempo, a preocupação em se reduzir os impactos ao meio ambiente se faz presente, sendo pensadas estratégias e políticas públicas para reduzir o consumo e descarte de materiais de base não degradável.

Tendo em vista que a maioria dos materiais para embalagem utilizados são de origem petroquímica, não-renováveis e não degradáveis, a busca por alternativas “amigas da natureza” se faz cada vez maior, estimulando a pesquisa constante em torno do desenvolvimento de polímeros biodegradáveis que exibam propriedades semelhantes ou mesmo superiores às de polímeros tradicionais. Nesse contexto, a combinação de diferentes matérias primas, com propriedades distintas e complementares, pode ser explorada.

Biopolímeros à base de amido são frequentemente utilizados, devido ao baixo custo, à ampla ocorrência na natureza e às boas propriedades de barreira a gases (O₂ e CO₂) exibidas por esses materiais; entretanto, apresentam algumas desvantagens, tais como propriedades mecânicas pobres, como baixa resistência à tração e ao rasgo, e baixa barreira ao vapor d'água, o que acaba por limitar sua aplicação (PELLISSARI *et al.*, 2018; THAKUR *et al.*, 2019). Sendo assim, estratégias são pensadas para otimizar as características desse tipo de material. Dentro do contexto de sustentabilidade, o emprego de nanofibrilas celulósicas (NFC's) constitui em alternativa promissora para a melhoria das propriedades de filmes a base de amido (BANGAR; WHITESIDE, 2021).

Assim como o amido, as NFC's podem ser extraídas de diversas fontes, são renováveis e degradáveis. Das fontes de celulose para a obtenção de nanofibrilas, destacam-se, dentro do contexto de sustentabilidade, os subprodutos agroindustriais, matérias-primas com baixo valor agregado que são, geralmente, utilizados para alimentação animal, combustão, ou mesmo descartadas de maneira inadequada, constituindo em problemas ambientais. Tendo em vista o volume de produção, em escala global, e, conseqüentemente, o volume de resíduo produzido, o uso

de subprodutos de grandes culturas agroindustriais como fonte de nanofibrilas eleva o apelo ecológico e vem ao encontro do conceito de sustentabilidade. Nesse caso, destaca-se o uso de palhas de aveia e trigo, duas das culturas mais produzidas em todo o mundo e, comprovadamente boas fontes de celulose (ESPINOSA *et al.*, 2017; GARCÍA *et al.*, 2016).

Frutas e hortaliças são matrizes alimentares que demandam tecnologias de embalagem, por se tratarem de organismos vivos, com intensa atividade metabólica e altos índices de deterioração. Nesse contexto, o morango se destaca pelos altos índices de perda pós-colheita, tendo em vista sua estrutura frágil e o intenso metabolismo, sendo o amolecimento dos tecidos e o ataque de fungos uns dos problemas que mais limitam seu consumo/comercialização e um grande desafio para os pesquisadores (FELIZIANI; ROMANAZZI, 2016; PANIAGUA *et al.*, 2017).

Ainda sob a ótica da mudança de comportamento de consumidores, a busca por alimentos prontos para o consumo tem crescido, ao mesmo tempo em que se aumenta a procura por alimentos naturais, livres de conservantes e com propriedades funcionais (HASAN; FERRENTINO; SCAMPICCHIO, 2020). Nesse contexto, enquadram-se os vegetais minimamente processados, que aliam conveniência e valor nutritivo. No que se refere à questão das embalagens, esse tipo de produto demanda ainda mais o manejo dessas tecnologias, visto que os danos oriundos do processamento, como descasque, corte, manipulação acarretam em injúrias extras, diminuindo a vida útil, em relação ao produto íntegro. Dentre os vegetais minimamente processados, a cenoura se destaca pela versatilidade de formas de apresentação, bem como pelo seu valor nutricional e sensorial e por ser um vegetal popular. Um dos problemas mais observados em cenouras minimamente processadas é o esbranquecimento da superfície, resultado da perda de água e lignificação dos tecidos, consequência do corte (CHEN, CHEN *et al.*, 2018; LI *et al.*, 2021). O emprego de revestimentos comestíveis figura-se como alternativa já comprovada para esse problema.

O objetivo desse estudo foi, pois, desenvolver e caracterizar bionanocompósitos à base de amido reforçados com nanofibrilas celulósicas obtidas das palhas de aveia e trigo quanto às propriedades mecânicas e de barreira, avaliando, posteriormente, seu efeito como revestimento comestível em morangos íntegros e cenouras minimamente processadas, ao longo do armazenamento refrigerado, visando a obtenção de novas alternativas de embalagens, que sejam biodegradáveis e apresentem propriedades equivalentes ou semelhantes às de polímeros

tradicionais, para atender à demanda da indústria de alimentos em geral e, sobretudo, o setor de pós-colheita de frutas e hortaliças.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Embalagens para alimentos no contexto atual

A produção mundial de alimentos é uma indústria intensiva em energia e recursos; o aumento constante da população induz a uma demanda cada vez mais crescente em produção (BURDON *et al.*, 2020; FUKASE; MARTIN, 2020). O aumento da produção é acompanhado do aumento da geração de resíduos alimentares, devido à aquisição de quantidades excedentes ou mesmo às práticas inadequadas de transporte/conservação/armazenamento. Nesse contexto, o uso de embalagens figura-se como alternativa para a redução do desperdício de alimentos, mediante a maior conservação (DILKES-HOFFMAN *et al.*, 2018; INGARAO *et al.*, 2017; KITZ *et al.*, 2021).

Plásticos não biodegradáveis são convencionalmente a principal escolha para materiais de embalagem alimentícias devido à sua fácil processabilidade, menor preço e alta resistência a estresses químicos e mecânicos. De fato, plásticos de base petroquímica, como poliestireno, polietileno, polipropileno e policloreto de vinila, apresentam boas características mecânicas e de barreira, como resistência à tração e ao rasgo, permeabilidade ao oxigênio, permeabilidade ao dióxido de carbono, permeabilidade ao vapor d'água e à transmissão de aromas (PARK *et al.*, 2017). No entanto, esses polímeros impõem grandes restrições ambientais devido à sua baixa reciclabilidade, derivabilidade e não biodegradabilidade, levando a sérios problemas ecológicos (OWI *et al.*, 2019; SAURABH *et al.*, 2013). Em adição, a preocupação com o esgotamento de recursos fósseis não renováveis soma mais um viés no uso desse tipo de material (FAHMY *et al.*, 2020; JAWAID; ALOTHMAN; SALIT, 2017; KHALIL *et al.*, 2018).

O aumento da demanda por embalagens para alimentos vem crescendo constantemente, acompanhando tendências de comportamento dos consumidores. Nesse contexto, é inevitável não citar a crise mundial causada pela pandemia COVID-19. As medidas restritivas impostas pelo *lockdown* causaram mudanças no comportamento dos consumidores. O número de compras pela internet e requisição de serviços de alimentação por *delivery* aumentou consideravelmente; em

adição, houve aumento também na quantidade de resíduos descartados, tendo em vista o receio de contaminação pelo vírus SARS-CoV-2 - estima-se um aumento de 53% de plásticos descartáveis, desde o início da pandemia até então - o que causou um retrocesso na questão de gerenciamento de resíduos (FILHO *et al.*, 2021; KLEMEŠ *et al.*, 2020; OLIVEIRA, WILLIARA QUEIROZ DE *et al.*, 2021; VANAPALLI *et al.*, 2021). Por exemplo, havia uma grande pressão dos governos de todo mundo em tomar medidas legislativas para a restrição de uso de plásticos descartáveis, iniciativa que foi interrompida pela instauração da pandemia (KITZ *et al.*, 2021). Estima-se que o consumo de plástico mundial se situa em 700 milhões de toneladas anuais, com previsões de atingir 1 bilhão de toneladas até o final de 2021 (FONSECA- GARCÍA; JIMÉNEZ-REGALADO; AGUIRRE-LOREDO, 2021); em adição, têm-se que mais de 2/3 dos materiais utilizados em embalagem em todo mundo, incluindo plástico, papel, cartão, aço e alumínio, destina-se à indústria de alimentos (BANGAR; WHITESIDE, 2021). Essas evidências reforçam a necessidade de estudos acerca da produção de materiais de base biodegradável que tenham condições de substituir as embalagens convencionais, de base petroquímica.

2.2 Polímeros biodegradáveis

Polímeros biodegradáveis são definidos como materiais cujas propriedades físicas e químicas se deterioram e degradam completamente quando expostos a microrganismos, dióxido de carbono (processos aeróbicos), metano (processos anaeróbicos), e água (processos aeróbicos e anaeróbicos) (BABU; O'CONNOR; SEERAM, 2013). Despertam interesse pela capacidade de substituir os materiais convencionais, de base petroquímica, com baixo custo e sem causar impactos ao meio ambiente (ASGHER *et al.*, 2020; FONSECA *et al.*, 2019; ILYAS *et al.*, 2018a; XU, KAIMENG *et al.*, 2020).

Polímeros biodegradáveis podem ser divididos em três classes de acordo com sua fonte: polímeros formados por um processo químico usando monômeros renováveis como precursores, como ácido polilático; polímeros como polihidroxialcanoatos, sintetizados a partir de microrganismos; e polímeros extraídos diretamente de biomassa animal ou vegetal incluindo polissacarídeos e proteínas (GALGANO *et al.*, 2015). Dentre esses, os biopolímeros a base de polissacarídeos se destacam, devido às propriedades físicas e mecânicas adequadas, à simplicidade de processamento e à ampla disponibilidade (KHALIL *et al.*, 2018).

Da classe dos polissacarídeos, o amido é o mais comumente utilizado para a obtenção de biopolímeros, devido ao baixo custo, fácil manipulação e à ampla ocorrência na natureza (FAHMA *et al.*, 2017; GONZÁLEZ *et al.*, 2015; LÓPEZ-CÓRDOBA *et al.*, 2017; PELISSARI *et al.*, 2018; WANG, KUN *et al.*, 2017). De fato, o amido para aplicações em biopolímeros pode ser extraído de diversas fontes, tais como milho (FONSECA-GARCÍA; JIMÉNEZ-REGALADO; AGUIRRE-LOREDO, 2021; QIN *et al.*, 2016; WANG, KUN *et al.*, 2017; XU, HELAN *et al.*, 2015), batata (DONG; QI; CUI, 2020; KARAKY *et al.*, 2019), trigo (GOUDARZI; SHAHABI-GHAHFARROKHI; BABAEI-GHAZVINI, 2017), arroz (COLUSSI *et al.*, 2015) e mandioca (JARAMILLO *et al.*, 2016; LÓPEZ-CÓRDOBA *et al.*, 2017; LUCHESE *et al.*, 2018; SANTANA *et al.*, 2017; TRAVALINI *et al.*, 2019), além de fontes não convencionais, como a banana verde, por exemplo (PELISSARI *et al.*, 2017; PINZON *et al.*, 2020). Em adição, polímeros à base de amido não apresentam toxicidade, são transparentes, inodoros, e semipermeáveis à umidade, gases (O₂ e CO₂) e componentes aromatizantes, assemelhando-se às propriedades exibidas por polímeros tradicionais (BANGAR; WHITESIDE, 2021; NAKTHONG; WONGSAGONSUP; AMORNSAKCHAI, 2017; SHAH *et al.*, 2016). Embora apresentem inúmeras vantagens, polímeros à base de amido tendem a exibir propriedades mecânicas inferiores, como baixa flexibilidade e resistência, além de baixa permeabilidade ao vapor d'água, resultado de sua alta hidrofiliabilidade (BRUNI *et al.*, 2020; SELIGRA *et al.*, 2016; THAKUR *et al.*, 2019). Essas propriedades mecânicas podem ser otimizadas por meio de modificações químicas, físicas e enzimáticas, ou mesmo pela adição de outros componentes (ASSIS *et al.*, 2012; BANGAR; WHITESIDE, 2021).

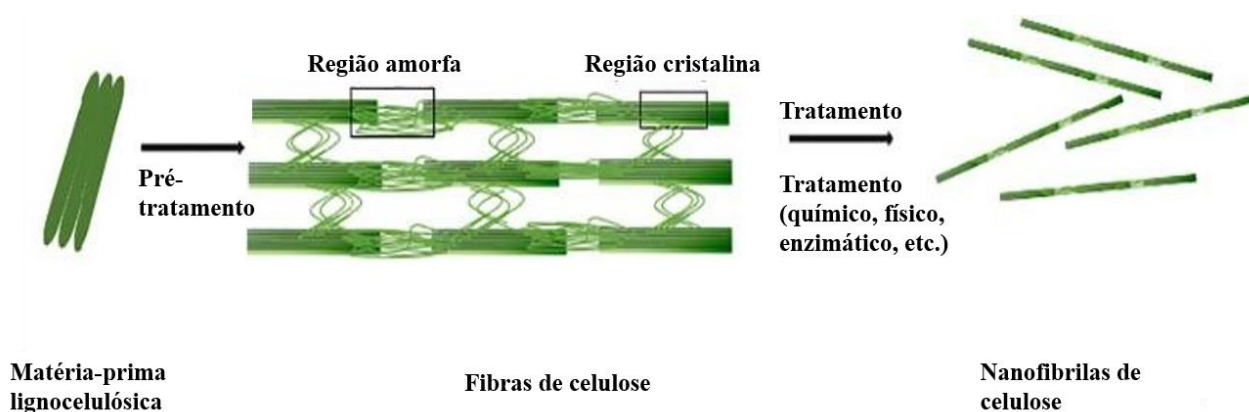
Algumas designações recorrentes quando se trata de materiais biodegradáveis envolvem os termos biopolímeros, biocompósitos e bionanocompósitos. O termo biopolímero se refere a qualquer material de origem natural que tenha um alto peso molecular e variedades estruturais repetitivas (monômeros) ligadas entre si através de ligações primárias e estáveis; exemplo são os biopolímeros a base de amido. Quando incluem dois ou mais materiais, distintos em suas propriedades físicas, são denominados biocompósitos; por exemplo, tem-se a adição de plastificantes em biopolímeros a base de amido, para melhorar as propriedades mecânicas (MALI *et al.*, 2004). Já o termo bionanocompósito é aplicado quando se adiciona aos biocompósitos pelo menos um material em escala nanométrica (1-100 nm) (RHIM; PARK; HA, 2013). Dessa forma, bionanocompósitos tendem a apresentar melhores propriedades em relação aos biopolímeros ou

até mesmo aos biocompósitos, já que combinam diferentes materiais, com propriedades distintas e um material tende a suprir a deficiência apresentada por outro. Nesse contexto, as nanofibrilas celulósicas destacam-se como potenciais melhoradoras das propriedades de materiais biodegradáveis, sobretudo aqueles a base de amido. Tem-se que as nanofibrilas são capazes de promover melhoria nas propriedades mecânicas e de barreira, aumentando a rigidez e diminuindo a permeabilidade ao vapor d'água (BANGAR; WHITESIDE, 2021; RAJINIPRIYA *et al.*, 2018; XU, KAIMENG *et al.*, 2020).

2.3 Nanofibrilas celulósicas

De acordo com Saito *et al.* (2007), nanofibrilas constituem em microfibrilas celulósicas rígidas acopladas à matriz hemicelulósica. Quando submetidas a tratamentos químicos, físicos, enzimáticos e outros, essas microfibrilas de celulose podem ser clivadas transversalmente ao longo das regiões amorfas, resultando em um material com alta relação de aspecto (razão entre comprimento e largura) e alta área superficial específica ($> 100 \text{ m}^2 / \text{g}$), conhecido como nanofibrilas de celulose (GARDNER *et al.*, 2008; ILYAS *et al.*, 2018b) (FIGURA 1). Assim como o amido, estão largamente disponíveis a baixo custo e são fáceis de reciclar; têm sido consideradas como a segunda geração de recursos renováveis (BANGAR; WHITESIDE, 2021; FONSECA *et al.*, 2019; XU, KAIMENG *et al.*, 2020).

Figura 1 – Esquema de obtenção de nanofibrilas celulósicas



Fonte: Adaptado de Bangar e Whiteside (2021).

No setor de alimentos, as nanofibrilas celulósicas apresentam uma vasta aplicação para a elaboração e reforço de materiais para embalagens, como filmes, revestimentos comestíveis e embalagens inteligentes (AHANKARI *et al.*, 2021; AZEREDO; ROSA; MATTOSO, 2017; CHEN, QIFENG; LIU; CHEN, 2019; VILARINHO *et al.*, 2018). Essa propriedade é atribuída ao quase perfeito arranjo cristalino das nanofibrilas, o que lhes confere elevada resistência e, portanto, potencial significativo como material de reforço (BANGAR; WHITESIDE, 2021; EICHHORN *et al.*, 2010; SANTANA *et al.*, 2017). Nanofibrilas celulósicas são capazes de estabelecer fortes ligações de hidrogênio, que aumentam a rigidez dos biopolímeros e impõem caminhos tortuosos à passagem de gases e do vapor d'água, melhorando as propriedades de barreira (BANGAR; WHITESIDE, 2021; FERRER; PAL; HUBBE, 2017; LAVOINE *et al.*, 2012; NOSHIRVANI *et al.*, 2016).

A importância da tecnologia nanocelulósica é evidenciada quando se observa o crescente número de publicações e patentes nos últimos anos focadas em materiais nanocelulósicas. O número anual de patentes publicadas aumentou de 50, no ano de 2010, para 500, no ano de 2017; cerca de 70% do número total de patentes foram publicadas entre 2015 e 2017 (CHARREAU; CAVALLO; FORESTI, 2020). A média anual de publicações neste tema aumentou de 1000 -1500 documentos/ano entre os anos de 2005 e 2010 para 2500 documentos/ano entre os anos de 2010 e 2014 (GARCÍA *et al.*, 2016). O que se observa atualmente, nas pesquisas realizadas em torno da área, é maior foco na aplicação dessas nanoestruturas no desenvolvimento de produtos, ao contrário das pesquisas pioneiras, que se concentravam na caracterização das nanoceluloses. Isso demonstra a tendência atual em buscar a aproximação entre a pesquisa e a indústria no desenvolvimento de produtos de base biológica, contribuindo para a segurança ambiental e o desenvolvimento sustentável (GARCÍA *et al.*, 2016). Um exemplo é o programa *Horizon 2020*, maior programa de pesquisa e inovação da União Europeia, que busca estimular, mediante aplicação de verbas, a pesquisa e a inovação em torno do desenvolvimento sustentável, envolvendo parceria entre laboratórios de pesquisa e indústria (EUROPEAN COMMISSION (EC), 2020). O estudo envolvendo obtenção e aplicação de nanofibrilas celulósicas se faz presente com muita frequência nesse contexto.

Do ponto de vista ambiental, as fontes de celulose, para a obtenção de nanofibrilas, podem ser classificadas como primárias (da produção de fibras de celulose como produto principal

(FARUK *et al.*, 2012; KEIJSERS; YILMAZ; VAN DAM, 2013): fibras para têxtil ou papel, madeira para construção, culturas industriais para bioetanol), secundárias (os subprodutos não processados de um processo de transformação na indústria alimentícia ou resíduos de atividades agrícolas / florestais: casca, palha, folhas, cascas) e terciárias (resíduos do uso, transformação e conversão de biomassa celulósica : polpa, bagaço, resíduos de alimentos) (GARCÍA *et al.*, 2016). Dentre essas, as duas últimas classificações merecem destaque, por envolverem a obtenção de nanofibrilas de celulose a partir de subprodutos agroindustriais, que são comumente descartados e subutilizados, o que vem ao encontro do conceito de sustentabilidade.

2.4 Utilização de subprodutos agroindustriais

Subprodutos agroindustriais constituem em partes de alimentos comumente descartadas nos processos de beneficiamento, devido às suas características sensoriais, tendo-se como exemplo, as cascas, sementes e folhas (PÉREZ-JIMÉNEZ; VIUDA- MARTOS, 2015; YOUSSEF; KAMEL; EL-SAMAHY, 2013). Esses materiais possuem baixo valor agregado, atendendo principalmente às necessidades de atividades agropecuárias (cama e ração para o gado), adubação do solo e compensação (compostagem) ou requisitos energéticos (*pellets* de combustão). No entanto, possuem potencial que vai além das aplicações tradicionais, podendo ser interessantes no aspecto tecnológico e lucrativo, pois além de ser vantajoso do ponto de vista ambiental, o uso parcial ou mesmo total de subprodutos industriais leva à diminuição de custos relacionados ao tratamento ou gerenciamento de resíduos, além de propiciar o desenvolvimento de produtos de alto valor agregado que podem proporcionar grandes lucros (GARCÍA *et al.*, 2016). Subprodutos industriais, sobretudo aqueles provenientes de culturas agrícolas, constituem fonte de celulose sustentável e renovável, tendo em vista sua alta disponibilidade, visto que atividades agrícolas e florestais são comuns em todo o mundo (GARCÍA *et al.*, 2016; KALLEL *et al.*, 2016; NOVO *et al.*, 2015).

2.4.1 Subprodutos da indústria de trigo

O trigo é o segundo cereal mais consumido no mundo, ficando atrás somente do milho. Um relatório recente do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) destaca um aumento da produção mundial anual de trigo, que atingiu 773,1 milhões de toneladas para o ano agrícola de 2020/21, aumento de 1,2% em relação à safra 2019/20 (764,5 milhões) (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA), 2020). No Brasil, a produção para a atual safra (2020/21), é de 6,2 milhões de toneladas, com média girando em torno de 11,4 milhões/ano

(CONAB, 2021). Segundo García *et al.* (2016) e Miao, Lin e Bian (2020) a maior parte do desperdício do beneficiamento de cereais, como arroz e trigo, provém das palhas e cascas. Tendo em vista os altos valores de produção anual, a quantidade de resíduo proveniente da indústria de trigo acarreta em grande impacto ambiental. A China, maior produtor mundial de trigo, gera, aproximadamente, 80 milhões de toneladas de palha de trigo anualmente, das quais apenas uma pequena percentagem é utilizada para a produção de matérias-primas e energia, enquanto a maior parte é queimada em campos e florestas ou enterrada no solo, constituindo uma fonte de poluição e um risco de incêndio recorrente (BIAN *et al.*, 2019). Diante desse contexto, obter nanofibrilas a partir da palha de trigo vem ao encontro do conceito de sustentabilidade, visto que este constitui em um material biodegradável e sua aplicação contribui para redução dos impactos ambientais.

Menon, Vishnu e Rao (2012) e Vassilev *et al.* (2012) afirmam que a palha de trigo possui 44,5% de celulose em sua composição, o que sinaliza o seu potencial para a obtenção de nanofibrilas celulósicas. De fato, diversos estudos comprovaram ser possível a obtenção de nanofibrilas a partir desse coproduto. Liu *et al.* (2017) isolaram, com sucesso, nanofibrilas de celulose a partir da palha de trigo, por meio de métodos ecologicamente corretos. Sánchez *et al.* (2016) promoveram o isolamento de nanofibrilas de ligninocelulose de palha de trigo, testando diferentes processos de polpação. Yang, Bai e Wang (2018) prepararam fibras de nanocarbono a partir de palha de trigo, para aplicação em supercapacitor. Já Petroudy; Ranjbar e Garmaroody (2018) desenvolveram polímeros superabsorventes ecológicos à base de carboximetilcelulose reforçados com celulose de palha de trigo. Esses dados reforçam o potencial da obtenção de nanofibrilas de celulose de palha de trigo como um bionanomaterial emergente.

2.4.2 Subprodutos da indústria de aveia

A aveia é um cereal pertencente à família das gramíneas. O gênero *Avena* inclui mais de 70 espécies, muitas delas cultivadas comercialmente, sendo a espécie *Avena sativa* L. (aveia branca) a mais comum (GORASH *et al.*, 2017; MENON, RAVI *et al.*, 2016). Aplicada em produtos destinados ao consumo e nutrição humana, está entre as 5 gramíneas mais cultivadas no mundo (UUSITALO; LEINO, 2019). A produção mundial da safra 2020/2021 foi de 25,53 milhões de toneladas e a previsão de produção para a safra 2021/2022 é de 24,55 milhões de toneladas (STATISTICA, 2021). O processo de descascamento e moagem dos grãos de aveia gera em torno de 20% de cascas (UUSITALO; LEINO, 2019). A quantidade dos subprodutos da aveia está em

escala crescente devido à alta produção desta matéria-prima, sendo este um problema ambiental quando descartados inadequadamente; têm-se que a maior parte do resíduo da indústria de aveia é queimado para gerar energia (DRZYMALA *et al.*, 2020; VALDEBENITO *et al.*, 2017). Outro destino da casca de aveia e outros subprodutos agroindustriais é a alimentação de animais devido ao alto teor de fibras que auxiliam na digestão e na nutrição e como forragem (NDOU *et al.*, 2018).

Segundo Oliveira *et al.* (2017) as cascas de grãos de aveia são fontes de fibras que possuem cerca de 40,1% de material celulósico com boa estabilidade térmica. Espinosa *et al.* (2017) confirmaram o potencial da palha de aveia para a obtenção de nanofibras de lignocelulose, evidenciando sua composição, pobre em lignina e com alta porcentagem de hemicelulose. De fato, a obtenção de nanocelulose da palha de aveia já foi confirmada por diversos autores (BRUNI *et al.*, 2020; OLIVEIRA, JEAN PAULO DE *et al.*, 2017; PASCHOAL *et al.*, 2015; QAZANFARZADEH; KADIVAR, 2016; VALDEBENITO *et al.*, 2017). Em relação a aplicações, para citar alguns exemplos: Qazanfarzadeh e Kadivar (2016) aplicaram nanofibrilas celulósicas de casca de aveia em nanocompósitos a base de soro de leite e constataram incremento da rigidez e redução da hidrofiliabilidade dos materiais; resultados semelhantes foram reportados por Oliveira *et al.* (2017), que incorporaram nanofibrilas celulósicas de casca de aveia na produção de hidrogéis; já Zanela *et al.* (2018) constataram que, além de melhorar as propriedades mecânicas, nanofibrilas de palha de aveia atuaram como enchimento, reduzindo os custos de materiais na produção de polímeros biodegradáveis a base de amido/PVA.

2.5 Uso de embalagens biodegradáveis e coberturas comestíveis na conservação de frutas e hortaliças

Frutas e hortaliças constituem fonte de nutrientes, como fibras, vitaminas, minerais, além de substâncias com atividade bioativa, que auxiliam na prevenção de doenças crônicas não transmissíveis, sendo seu consumo regular recomendado por várias organizações mundiais, como WHO (World health organization), FAO (Food and agriculture organization), USDA (United states Department of Agriculture) e EFSA (European food safety authority) para combate e prevenção a diversas doenças e ao câncer (SUCHETA *et al.*, 2019). A Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO/ONU), por exemplo, designou 2021 como o "Ano Internacional das Frutas e Vegetais", com vistas à maior conscientização sobre os benefícios do consumo desses alimentos (FAO, 2020a). Em adição, a busca por esses produtos tem aumentado, em detrimento de

produtos ultra processados, reflexo de uma maior adesão a estilos de vida saudáveis, por parte dos consumidores (HASAN; FERRENTINO; SCAMPICCHIO, 2020).

Frutas e hortaliças são organismos vivos, que mantêm seu metabolismo mesmo após a colheita. Uma vez colhidos, ocorrem mudanças no equilíbrio gasoso entre o consumo de oxigênio e a produção de dióxido de carbono; macromoléculas orgânicas são lisadas para espécies mais simples, com consumo de O₂ e formação de CO₂. Nessa nova condição, as células não se renovam e as taxas de transferência de gases aumentam, causando uma perda metabólica e levando o vegetal à gradual maturação e eventual senescência; a intensidade desses processos são dependentes de fatores intrínsecos, como espécie, cultivar, estágio de maturação e fatores extrínsecos, como a composição de gases (O₂, CO₂ e etileno) no ambiente (DHALL, 2013; PUTNIK; BURSAC KOVAČEVIĆ, 2017). Sendo assim, os vegetais podem ser rapidamente degradados na ausência de práticas pós-colheita adequadas, sobretudo em países em desenvolvimento (PACE; CEFOLA, 2021; SUCHETA *et al.*, 2019). Alarmantes perdas pós-colheita são observadas, em todas as etapas da cadeia produtiva. No Brasil, por exemplo, estima-se que cerca de 10% de tudo que é colhido se perde ainda no campo; 50% é desperdiçado durante o manuseio e transporte, 30% é perdido na comercialização e abastecimento e 10% é descartado pelos consumidores. Em escala global, um terço de toda a produção de alimentos se torna resíduo alimentar, dos quais 45% são referentes a frutas e hortaliças (CEDES, 2018). Esse cenário tem sido agravado, sobretudo após as limitações de rotas de transporte e medidas de quarentena, impostas pela pandemia COVID-19 (FAO, 2020b).

Dentro desse contexto, o manejo de embalagens figura-se como alternativa viável no processo de conservação de frutas e hortaliças. Além de exercerem barreira ao ataque de fungos e outros microrganismos, as embalagens são capazes de promover modificação atmosférica, mediante a redução dos níveis de oxigênio (O₂) e aumento do teor de gás carbônico (CO₂), promovendo efeito direto sobre o retardo do metabolismo e consequente senescência de frutas e hortaliças (BADILLO; SEGURA-PONCE, 2020; GHIDELLI; PÉREZ-GAGO, 2018; HAN *et al.*, 2018; WILSON *et al.*, 2019). Não obstante, o uso de embalagens de base petroquímica, como polietileno, PVC, poliestireno, etc., outrora preferidos para o uso em frutas e hortaliças, vem sendo desestimulado, devido aos impactos ambientais gerados por esse tipo de material, o que tem instigado cada vez mais os estudos acerca do desenvolvimento de alternativas biodegradáveis

(KHALIL *et al.*, 2018; NASCIMENTO *et al.*, 2018; NECHYPORCHUK; BELGACEM; BRAS, 2016).

Polímeros de base biodegradável são geralmente aplicados em frutas e hortaliças sob a forma de revestimentos comestíveis. Revestimentos comestíveis podem ser entendidos como uma fina camada de material comestível (polissacarídeos, proteínas, lipídeos) que atuam como obstáculo entre o alimento e o ambiente, exercendo mesmo efeito de embalagem (SHARMA, POORVA *et al.*, 2019). Além da vasta possibilidade de matérias primas, os revestimentos comestíveis podem combinar outros materiais que otimizam suas propriedades, como é o caso de nanofibrilas celulósicas e substâncias com atividades específicas, como antioxidantes e antimicrobianos, como sorbatos, ácidos orgânicos e óleos essenciais, tendo sido frequentemente empregados como técnicas de conservação de frutas e hortaliças (GALGANO *et al.*, 2015; KHALIL *et al.*, 2018; NICOLAU-LAPEÑA *et al.*, 2021; QADRI; YOUSUF; SRIVASTAVA, 2015; SALEHI, 2020; YOUSUF; QADRI; SRIVASTAVA, 2018).

2.6 Morango

O morango é um fruto altamente consumido e apreciado devido às suas características sensoriais e valor nutricional, evidenciado pelos teores de fibras e compostos bioativos, como vitaminas, minerais, polifenóis, especialmente antocianinas e ácidos fenólicos (BATTINO *et al.*, 2019; MAZZONI *et al.*, 2020; MILLER; FEUCHT; SCHMID, 2019), com destaque para o resveratrol, composto com comprovada atividade antimutagênica (ALMEIDA *et al.*, 2021; DU *et al.*, 2020). Além disso, os morangos fazem parte de uma tendência crescente que destaca os antioxidantes derivados de plantas por seus benefícios comprovados para a saúde (WARNER *et al.*, 2021). Não por acaso, o consumo e produção do fruto tem aumentado nos últimos anos. A produção mundial, no ano de 2019, chegou a 8.885.028 toneladas (FAO, 2021). Entre os pequenos frutos, a sua produção mundial ocupa o segundo lugar, ficando atrás apenas das uvas (BODELÓN *et al.*, 2013; KUMAR *et al.*, 2014).

Entretanto, morangos tendem a apresentar vida útil pós-colheita muito curta. Por se tratarem de frutos não-climatéricos, são colhidos no estágio maduro, período de intensa atividade metabólica; em adição, possuem o tecido extremamente fino, o que otimiza a degradação por injúrias físicas e o ataque de microrganismos, que culminam na perda de qualidade (BAL; BAHTIYAR; ÜRÜN, 2021; LU *et al.*, 2018; NASRIN *et al.*, 2017). Podem ser destacados como

principais eventos envolvidos com a deterioração pós-colheita de morangos, e que limitam seu consumo e comercialização, o amaciamento dos tecidos e o ataque de fungos (FELIZIANI; ROMANAZZI, 2016; PANIAGUA *et al.*, 2017; PANOU; KARABAGIAS; RIGANAKOS, 2019; PETRASCH *et al.*, 2019). Estima-se que as perdas pós-colheita em morangos estejam em torno de 25% a 50% (TURQUETT *et al.*, 2021).

Por esses motivos, o morango constitui um bom modelo para estudos com biopolímeros. Revestimentos comestíveis de base biodegradável têm sido aplicados, com sucesso, na manutenção da qualidade pós-colheita de morangos. Alguns exemplos de estudos e suas principais conclusões são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Estudos envolvendo a aplicação de revestimentos comestíveis na pós-colheita de morango (“continua”)

Revestimento	Principais efeitos	Referência
Nanofibrilas celulósicas de carboximetilcelulose	Retardo na manutenção da diminuição da taxa respiratória	(KWAK <i>et al.</i> , 2021)
Conjugado de quitosana- <i>whey</i> <i>protein</i>	Redução nas alterações de perda de peso, pH e acidez titulável, açúcares redutores, ácido ascórbico, fenólicos totais e atividade antioxidante; extensão da vida útil..	(MULEY; SINGHAL, 2020)
Quitosana	Diminuição do amolecimento, pela diminuição da atividade e expressão gênica de enzimas de amaciamento	(WANG, KE <i>et al.</i> , 2020)

Tabela 1 - Estudos envolvendo a aplicação de revestimentos comestíveis na pós-colheita de morango (“conclusão”)

Revestimento	Principais efeitos	Referência
Quitosana	Retardo as alterações na perda de peso, sólidos solúveis, açúcares totais, açúcares redutores e não redutores, acidez titulável, ácido ascórbico e pH.	(TAVARES <i>et al.</i> , 2019)
Conjugado de amido de banana-quitosana com gel de aloe-vera	Redução da decomposição fúngica, extensão da vida-útil e manutenção da cor e a firmeza	(PINZON <i>et al.</i> , 2020)
Conjugado de quitosana-clorofilina	Diminuição do crescimento de leveduras e perda de água, maior manutenção da atividade antioxidante, extensão da vida útil por mais 3 dias.	(LUKSIENE; BUCHOVEC, 2019)
Quitosana e nanofibrilas celulósicas	Redução da perda de massa e amaciamento; extensão da vida útil.	(RESENDE <i>et al.</i> , 2018)
Fécula de mandioca e própolis	Manutenção dos teores de vitamina C e atividade antioxidante	(THOMAS <i>et al.</i> , 2016)

Fonte: Do autor.

2.7 Vegetais minimamente processados

Segundo a *International Fresh-Cut Produce Association* (IFPA, [S.d.]), produtos minimamente processados (*fresh cut*, levemente processados ou parcialmente processados) são produtos “selecionados, descascados, lavados, cortados e 100% utilizáveis que são posteriormente ensacados ou pré-embalados para oferecer aos consumidores frescor, conveniência e qualidade

nutricional”. Vegetais minimamente processados unem conveniência e qualidade sensorial e constituem uma maneira de oferecer ao consumidor um produto pronto para consumo e sem alterações significativas nas suas características de produto fresco (JIDEANI et al., 2017; RAMOS et al., 2021; YOUSUF; QADRI; SRIVASTAVA, 2018). Considerando as mudanças de comportamento dos consumidores nos últimos anos, a busca por alternativas alimentares saudáveis tem aumentado, assim como a procura pela alimentação conveniente, com alimentos prontos e serviços de delivery, sobretudo após as restrições impostas pela pandemia de COVID-19 (HASAN; FERRENTINO; SCAMPICCHIO, 2020). Dentro desse contexto, se enquadram os vegetais minimamente processados.

No entanto, os procedimentos aos quais os vegetais minimamente processados são submetidos, que incluem descasque, corte, lavagem, tratamento com agentes sanitizantes, etc., acarretam injúrias aos produtos, por alterarem a integridade física dos mesmos, tornando-os mais suscetíveis à deterioração, se comparados com o produto em seu estado íntegro (BANERJEE et al., 2016; MORETTI, 2007). Para minimizar a degradação e prolongar a vida útil do produto minimamente processado, algumas técnicas podem ser utilizadas, tais como o uso do frio, conservantes, tratamentos térmicos suaves, radiação, dentre outros (SIDDIQUI et al., 2011). A escolha da embalagem, no entanto, é um fator determinante na manutenção da qualidade do produto minimamente processado. Nesse contexto, o uso de revestimentos comestíveis de base biodegradável se faz presente com frequência em diversos estudos (KHALIL et al., 2018; YOUSUF; QADRI; SRIVASTAVA, 2018).

2.7.1 Cenouras

Das hortaliças minimamente processadas, a cenoura é uma das mais populares, pela sua versatilidade de uso e formas de apresentação ao consumidor (PASSOS et al., 2017; VILLAFANE, 2017). Além do aspecto sensorial, cenouras são valorizadas pelo seu conteúdo nutricional, destacado pelos teores ácido ascórbico, fibras, minerais, antioxidantes, flavonoides e outros compostos fenólicos e carotenoides, com destaque para α -caroteno e β -caroteno, considerados pró-vitamina A, e o licopeno (HAMMAZ et al., 2021; PASSOS et al., 2017; SHIGEMATSU et al., 2018; VILLAFANE, 2017).

Entretanto, alterações são observadas devido ao processamento mínimo. Pode ser considerado como o principal problema observado em cenouras minimamente processadas o

esbranquecimento da superfície (CHEN, CHEN et al., 2018; LAI; CHEN; LAI, 2013; VILLAFANE, 2017). Esse fenômeno é consequência de respostas físicas ou fisiológicas aos ferimentos dos tecidos. A resposta física está relacionada à desidratação da superfície, mediante à perda de água pela maior exposição dos tecidos ao ambiente externo, sendo um processo reversível; já a resposta fisiológica envolve a lignificação dos tecidos, que resulta no esbranquecimento irreversível da superfície, culminando na perda da coloração alaranjada intensa, característica das cenouras, limitando, pois, seu consumo e comercialização (CHEN, CHEN et al., 2018; FAI et al., 2016; SONG et al., 2017; XYLIA et al., 2019). Revestimentos comestíveis são capazes de amenizar esses sintomas, além de outros efeitos sobre a qualidade de cenouras, conforme observado na Tabela 2.

Tabela 2 – Estudos envolvendo a aplicação de revestimentos comestíveis em cenouras minimamente processados (“continua”)

Revestimento	Principais efeitos	Referência
Alginato de sódio + probiótico (<i>Lacto- bacillus acidophilus</i> La-14)	Redução da taxa metabólica; redução da perda de água; manutenção da coloração característica.	(SHIGEMATSU <i>et al.</i> , 2018)
Carboximetilcelulose (CMC)	Extensão da vida útil; manutenção das características físicas e nutricionais; boa aceitação sensorial.	(SHARMA, SAHIL <i>et al.</i> , 2018)
Nanopartículas de quitosana-tripolifosfato carregadas com carvacrol	Redução do esbranquecimento da superfície; redução da carga microbiana.	(MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ; AMODIO; COLELLI, 2017)

Tabela 2 – Estudos envolvendo a aplicação de revestimentos comestíveis em cenouras minimamente processados (“conclusão”)

Revestimento	Principais efeitos	Referência
Amido de mandioca reforçado com nanofibrilas celulósicas de casca de cenoura	Redução da perda de massa, taxa respiratória e esbranquecimento da superfície; manutenção da atividade antioxidante total e ácidos orgânicos.	(GUIMARÃES; MENEZES; <i>et al.</i> , 2016)
Nanopartículas de Montmorillonita	Preservação da atividade antioxidante total, ácidos orgânicos e compostos voláteis.	(GUIMARÃES; DOS REIS; <i>et al.</i> , 2016)
Purê de cenoura, quitosana, amido de milho, gelatina, glicerol e cinamaldeído	Retardo na senescência; manutenção de carotenoides; diminuição da atividade de polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POD); redução no acúmulo de polifenóis,	(WANG, X. <i>et al.</i> , 2015)
Amido de mandioca contendo óleo essencial de canela e extrato de semente de uva	Redução do esbranquecimento da superfície, boa aceitação sensorial.	(LAI; CHEN; LAI, 2013)

Fonte: Do autor.

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Ainda que explorado há certo tempo, o desenvolvimento de polímeros de base biodegradável ainda se figura como um assunto extremamente atual, tendo em vista o atual cenário de desequilíbrio ecológico, observado em escala global, e as mudanças de comportamento e tendências experimentadas pela pandemia,

muitas delas que vieram para ficar. A incorporação da nanotecnologia, que está em constante expansão, enaltece o caráter atual do estudo.

Embora boa quantidade de trabalhos envolvendo bionanocompósitos na pós- colheita de frutas e hortaliças esteja disponível na literatura, a busca constante pelas melhorias das propriedades desses materiais, combinando diferentes matérias-primas, em diferentes proporções, se faz necessária, a fim de expandir as alternativas de materiais que exibam propriedades equivalentes ou superiores às de polímeros tradicionais. Sendo assim, o presente estudo traz contribuições significativas no que diz respeito à novas alternativas de materiais de embalagem e técnicas de preservação pós-colheita.

Os resultados obtidos por esse trabalho podem servir de base para futuros estudos, explorando a otimização das propriedades dos bionanocompósitos elaborados (considerando a constante busca por melhorias), diferentes técnicas de aplicação e o estudo de interação com diferentes matrizes, de superfícies distintas, a fim de expandir as possibilidades de aplicação.

REFERÊNCIAS

AHANKARI, Sandeep S et al. Nanocellulose in food packaging: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 255, p. 117479, 2021.

ALMEIDA, Tamires Cunha et al. Resveratrol effects in oral cancer cells: a comprehensive review. **Medical Oncology**, v. 38, n. 8, p. 1–10, 2021.

ASGHER, Muhammad et al. Bio-based active food packaging materials: Sustainable alternative to conventional petrochemical-based packaging materials. **Food Research International**, v. 137, p. 109625, 2020.

ASSIS, Letícia Marques De et al. Revisão: características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 99–109, 2012.

AZEREDO, Henriette M C; ROSA, Morsyleide F; MATTOSO, Luiz Henrique C. Nanocellulose in bio-based food packaging applications. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 664–671, 2017.

BABU, Ramesh P; O’CONNOR, Kevin; SEERAM, Ramakrishna. Current progress on bio-based polymers and their future trends. **Progress in Biomaterials**, v. 2, n. 1, p. 8, 2013.

BADILLO, Guillermo M.; SEGURA-PONCE, Luis A. Classic and Reaction-Diffusion Models Used in Modified Atmosphere Packaging (MAP) of Fruit and Vegetables. **Food Engineering Reviews**, v. 12, n. 2, p. 209–228, 2020.

BAL, Erdiñ; BAHTIYAR, ; ÜRÜN, Aydın. Effects of Chitosan Coating with Putrescine on Bioactive Compounds and Quality of Strawberry cv. San Andreas During Cold Storage. **Erwerbs-Obstbau**, v. 63, p. 7–14, 2021.

BANERJEE, Aparajita et al. Shelf life extension of minimally processed ready-to-cook (RTC) cabbage by gamma irradiation. **Journal of food science and technology**, v. 53, n. 1, p. 233–244, 2016.

BANGAR, Sneha Punia; WHITESIDE, William Scott. Nano-cellulose reinforced starch bio composite films- A review on green composites. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 185, p. 849–860, 2021.

- BATTINO, Maurizio et al. Relevance of functional foods in the Mediterranean diet: the role of olive oil, berries and honey in the prevention of cancer and cardiovascular diseases. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 6, p. 893–920, 2019.
- BIAN, Huiyang et al. Lignocellulosic nanofibrils produced using wheat straw and their pulping solid residue: From agricultural waste to cellulose nanomaterials. **Waste Management**, v. 91, p. 1–8, 2019.
- BODELÓN, Oscar G. et al. Pressurization and cold storage of strawberry purée: Colour, anthocyanins, ascorbic acid and pectin methylesterase. **LWT - Food Science and Technology**, v. 52, n. 2, p. 123–130, 2013.
- BRUNI, Graziella Pinheiro et al. Biocomposite Films Based on Phosphorylated Wheat Starch and Cellulose Nanocrystals from Rice, Oat, and Eucalyptus Husks. **Starch - Stärke**, v. 72, n. 3–4, p. 1900051, 2020.
- BURDON, Jeremy J. et al. Maximizing World Food Production through Disease Control. **BioScience**, v. 70, n. 2, p. 126–128, 2020.
- CEDES. **Estratégias para redução de perdas e desperdício de alimentos**. [S.l: s.n.], 2018. Disponível em: <<http://bd.camara.gov.br/bd/handle/bdcamara/36779#>>.
- CHARREAU, Hernán; CAVALLO, Ema; FORESTI, María Laura. Patents involving nanocellulose: Analysis of their evolution since 2010. **Carbohydrate Polymers**, v. 237, p. 116039, 2020.
- CHEN, Chen et al. Effects of hydrogen sulfide on the surface whitening and physiological responses of fresh-cut carrots. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 12, p. 4726–4732, 2018.
- CHEN, Qifeng; LIU, Yayun; CHEN, Guangxue. A comparative study on the starch- based biocomposite films reinforced by nanocellulose prepared from different non- wood fibers. **Cellulose**, v. 26, n. 4, p. 2425–2435, 2019.
- COLUSSI, Rosana et al. Acetylation of rice starch in an aqueous medium for use in food. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, n. 2, p. 1076–1082, 2015.

CONAB. **Conab - Boletim da Safra de Grãos**. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>>. Acesso em: 3 ago. 2021.

DHALL, R K. Advances in Edible Coatings for Fresh Fruits and Vegetables: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, n. 5, p. 435–450, 2013.

DILKES-HOFFMAN, Leela S. et al. Environmental impact of biodegradable food packaging when considering food waste. **Journal of Cleaner Production**, v. 180, p. 325– 334, 2018.

DONG, Die; QI, Zhengliang; CUI, Bo. Complex Formation between Soy Proteins and Potato Starch: Effect of pH, Biopolymer Ratio, and Biopolymer Concentration. **Starch/Staerke**, v. 72, n. 1–2, p. 1–7, 2020.

DRZYMALA, K. et al. Rye and Oat Agricultural Wastes as Substrate Candidates for Biomass Production of the Non-Conventional Yeast *Yarrowia lipolytica*. **Sustainability**, v. 12, p. 1–12, 2020.

DU, Juan et al. Study on the anticancer biological mechanism of Resveratrol. **E3S Web of Conferences**, v. 218, p. 1–6, 2020.

EICHHORN, S J et al. Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites. **Journal of Materials Science**, v. 45, n. 1, p. 1–33, 2010.

ESPINOSA, Eduardo et al. A comparative study of the suitability of different cereal straws for lignocellulose nanofibers isolation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 103, p. 990–999, 2017.

EUROPEAN COMMISSION (EC). **Annex 15 Horizon 2020 Work Programme 2018- 2020**. Climate action, environment, resource efficiency and raw materials Call - Building a low-carbon , climate resilient future : climate action in Call - Greening the economy in line with the Sustainable D., 2020.

FAHMA, Farah et al. Thermoplastic Cassava Starch-PVA Composite Films with Cellulose Nanofibers from Oil Palm Empty Fruit Bunches as Reinforcement Agent. **International Journal of Polymer Science**, p. 1–6, 2017.

FAHMY, Heba Mohamed et al. Advances in nanotechnology and antibacterial properties of biodegradable food packaging materials. **RSC Advances**, v. 10, n. 35, p. 20467–20484, 2020.

FAI, Ana Elizabeth Cavalcante et al. Development and evaluation of biodegradable films and coatings obtained from fruit and vegetable residues applied to fresh-cut carrot (*Daucus carota* L.). **Postharvest Biology and Technology**, v. 112, p. 194–204, 2016.

FAO. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 14 jul. 2021.

FAO. **Fruit and vegetables – your dietary essentials**. Rome: [s.n.], 2020a.

FAO. **Mitigating risks to food systems during COVID-19: Reducing food loss and waste**. [S.l: s.n.], 2020b.

FARUK, Omar et al. Biocomposites reinforced with natural fibers: 2000–2010. **Progress in Polymer Science, Topical Issue on Polymeric Biomaterials**, v. 37, n. 11, p. 1552–1596, 2012.

FELIZIANI, E.; ROMANAZZI, G. Postharvest decay of strawberry fruit: Etiology, epidemiology, and disease management. **Journal of Berry Research**, v. 6, n. 1, p. 47–63, 2016.

FERRER, Ana; PAL, Lokendra; HUBBE, Martin. Nanocellulose in packaging: Advances in barrier layer technologies. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 574–582, 2017.

FILHO, Walter Leal et al. COVID-19 and waste production in households: A trend analysis. **The Science of the Total Environment**, v. 777, p. 145997, 2021.

FONSECA-GARCÍA, Abril; JIMÉNEZ-REGALADO, Enrique Javier; AGUIRRE-LOREDO, Rocio Yaneli. Preparation of a novel biodegradable packaging film based on corn starch-chitosan and poloxamers. **Carbohydrate Polymers**, v. 251, p. 117009, 2021.

FONSECA, Alessandra S. et al. Improving cellulose nanofibrillation of non-wood fiber using alkaline and bleaching pre-treatments. **Industrial Crops and Products**, v. 131, p. 203–212, 2019.

FUKASE, Emiko; MARTIN, Will. Economic growth, convergence, and world food demand and supply. **World Development**, v. 132, p. 104954, 2020.

- GALGANO, F. et al. Biodegradable packaging and EDIBLE COATING for fresh-cut fruits and vegetables. **Italian Journal of Food Science**, v. 27, n. 1, p. 1–20, 2015.
- GARCÍA, Araceli et al. Industrial and crop wastes: A new source for nanocellulose biorefinery. **Industrial Crops and Products**, v. 93, p. 26–38, 2016.
- GARDNER, Douglas J et al. Adhesion and Surface Issues in Cellulose and Nanocellulose. **Journal of Adhesion Science and Technology**, v. 22, n. 5–6, p. 545–567, 2008.
- GHIDELLI, Christian; PÉREZ-GAGO, María B. Recent advances in modified atmosphere packaging and edible coatings to maintain quality of fresh-cut fruits and vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 4, p. 662–679, 2018.
- GONZÁLEZ, Kizkitza et al. Starch and cellulose nanocrystals together into thermoplastic starch bionanocomposites. **Carbohydrate polymers**, v. 117, p. 83–90, 2015.
- GORASH, A. et al. Aspects in oat breeding: nutrition quality, nakedness and disease resistance, challenges and perspectives. **Annals of Applied Biology**, v. 171, n. 3, p. 281–302, 2017.
- GOUDARZI, Vahid; SHAHABI-GHAHFARROKHI, Iman; BABAEI-GHAZVINI, Amin. Preparation of ecofriendly UV-protective food packaging material by starch/TiO₂ bionanocomposite: Characterization. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 95, n. February 2017, p. 306–313, 2017.
- GUIMARÃES, Isabela Costa; DOS REIS, Kelen Cristina; et al. Combined effect of starch/montmorillonite coating and passive MAP in antioxidant activity, total phenolics, organic acids and volatile of fresh-cut carrots. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 67, n. 2, p. 141–152, 2016.
- GUIMARÃES, Isabela Costa; MENEZES, Evandro Galvão Tavares; et al. Filme comestível à base de amido e micro/nanofibrilas de celulose de cenoura prolonga a vida útil de cenoura minimamente processada. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 34, n. 1, p. 85–110, 2016.
- HAMMAZ, Faiza et al. Temperature and storage time increase provitamin A carotenoid concentrations and bioaccessibility in post-harvest carrots. **Food Chemistry**, v. 338, p. 128004, 2021.

- HAN, Jia Wei et al. Food Packaging: A Comprehensive Review and Future Trends. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 4, p. 860–877, 2018.
- HASAN, S. M.Kamrul; FERRENTINO, Giovanna; SCAMPICCHIO, Matteo. Nanoemulsion as advanced edible coatings to preserve the quality of fresh-cut fruits and vegetables: a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 1, p. 1–10, 2020.
- IFPA. International Fresh-Cut Produce Association | **UIA Yearbook Profile | Union of International Associations**. Disponível em: <<https://uia.org/s/or/en/1100046698>>. Acesso em: 6 ago. 2021.
- ILYAS, R. A. et al. Development and characterization of sugar palm nanocrystalline cellulose reinforced sugar palm starch bionanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, v. 202, p. 186–202, 2018a.
- ILYAS, R.A. et al. Nanocellulose Reinforced Starch Polymer Composites: A Review of Preparation, Properties and Application. 2018, Malaysia: **5th International Conference on Applied Sciences and Engineering Application (ICASEA 2018)**, 2018b.
- INGARAO, Giuseppe et al. Life cycle energy and CO₂ emissions analysis of food packaging: an insight into the methodology from an Italian perspective. **International Journal of Sustainable Engineering**, v. 10, n. 1, p. 31–43, 2017.
- JARAMILLO, Carolina Medina et al. Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 150–159, 2016.
- JAWAID, Mohammad; ALOTHMAN, Othman Y.; SALIT, Mohd Sapuan. **Green Biocomposites: Manufacturing and Properties**. [S.l.: s.n.], 2017.
- JIDEANI, Afam I.O. et al. **Processing and Preservation of Fresh-Cut Fruit and Vegetable Products. Postharvest Handling**. [S.l.]: InTech, 2017.
- KALLEL, Fatma et al. Isolation and structural characterization of cellulose nanocrystals extracted from garlic straw residues. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 287–296, 2016.

KARAKY, Hamzé et al. Characterization of beet-pulp fiber reinforced potato starch biopolymer composites for building applications. **Construction and Building Materials**, v. 203, p. 711–721, 2019.

KEIJSERS, Edwin R P; YILMAZ, Gülden; VAN DAM, Jan E G. The cellulose resource matrix. **Carbohydrate Polymers**, v. 93, n. 1, p. 9–21, 2013.

KHALIL, H.P.S.A. et al. Biodegradable Films for Fruits and Vegetables Packaging. Application: Preparation and Properties. **Food Engineering Reviews**, v. 10, n. 3, p. 139– 153, 2018.

KHUBBER, Sucheta et al. **Status and recent trends in fresh-cut fruits and vegetables.** FRESH-CUT FRUITS AND VEGETABLES. [S.l.]: Academic Press, 2019. p. 17–49.

KITZ, Robert et al. Food packaging during the COVID-19 pandemic: Consumer perceptions. **International Journal of Consumer Studies**, v.00, p.1-15, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/ijcs.12691>>.

KLEMEŠ, Jiri et al. Minimising the present and future plastic waste, energy and environmental footprints related to COVID-19. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 127, p. 109883, 2020.

KUMAR, Sunil et al. Postharvest Changes in Antioxidant Capacity, Enzymatic Activity, and Microbial Profile of Strawberry Fruits Treated with Enzymatic and Divalent Ions. **Food and Bioprocess Technology**, v. 7, n. 7, p. 2060–2070, 2014.

KWAK, Hojung et al. Protective coating of strawberries with cellulose nanofibers. **Carbohydrate Polymers**, v. 258, p. 117688, 2021.

LAI, Tsai Ying; CHEN, Chien Hsien; LAI, Lih Shiuh. Effects of Tapioca Starch/Decolorized Hsian-Tsao Leaf Gum-Based Active Coatings on the Quality of Minimally Processed Carrots. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 1, p. 249–258, 2013.

LAVOINE, Nathalie et al. Microfibrillated cellulose – Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 2, p. 735–764, 2012.

LI, Li et al. Synergistic effects of ultraviolet light irradiation and high-oxygen modified atmosphere packaging on physiological quality, microbial growth and lignification metabolism of fresh-cut carrots. **Postharvest Biology and Technology**, v. 173, p. 111365, 2021.

LIU, Qi et al. Isolation of High-Purity Cellulose Nanofibers from Wheat Straw through the Combined Environmentally Friendly Methods of Steam Explosion, Microwave- Assisted Hydrolysis, and Microfluidization. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 5, n. 7, p. 6183–6191, 2017.

LÓPEZ-CÓRDOBA, Alex et al. Cassava starch films containing rosemary nanoparticles produced by solvent displacement method. **Food Hydrocolloids**, v. 71, p. 26–34, 2017.

LU, Hongyan et al. Effect of superatmospheric oxygen exposure on strawberry (*Fragaria × ananassa* Fuch.) volatiles, sensory and chemical attributes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 142, p. 60–71, 2018.

LUCHESE, Cláudia Leites et al. Development and characterization of cassava starch films incorporated with blueberry pomace. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, p. 834–839, 2018.

LUKSIENE, Z.; BUCHOVEC, I. Impact of chlorophyllin-chitosan coating and visible light on the microbial contamination, shelf life, nutritional and visual quality of strawberries. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 52, p. 463–472, 2019.

MALI, Suzana et al. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, n. 2, p. 129–135, 2004.

MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, Ginés; AMODIO, Maria; COLELLI, Giancarlo. Carvacrol-loaded chitosan nanoparticles maintain quality of fresh-cut carrots. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 41, p. 56–63, 2017.

MAZZONI, Luca et al. Sensorial and nutritional quality of inter and intra—Specific strawberry genotypes selected in resilient conditions. **Scientia Horticulturae**, v. 261, p. 108945, 2020.

MENON, Ravi et al. Oats-From Farm to Fork. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 77, p. 1–55, 2016.

- MENON, Vishnu; RAO, Mala. Trends in bioconversion of lignocellulose: Biofuels, platform chemicals & biorefinery concept. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 38, n. 4, p. 522–550, 2012.
- MIAO, Xiaran; LIN, Jinyou; BIAN, Fenggang. Utilization of discarded crop straw to produce cellulose nanofibrils and their assemblies. **Journal of Bioresources and Bioproducts**, v. 5, n. 1, p. 26–36, 2020.
- MILLER, Katharina; FEUCHT, Walter; SCHMID, Markus. Bioactive compounds of strawberry and blueberry and their potential health effects based on human intervention studies: A brief overview. **Nutrients**, v. 11, n. 7, 2019.
- MORETTI, Celso L. **Manual De Processamento Mínimo de Frutas e Hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2007. v. 4.
- MULEY, Abhijeet Bhimrao; SINGHAL, Rekha S. Extension of postharvest shelf life of strawberries (*Fragaria ananassa*) using a coating of chitosan-whey protein isolate conjugate. **Food Chemistry**, v. 329, p. 127213, 2020.
- NAKTHONG, Nithima; WONGSAGONSUP, Rungtiwa; AMORNSAKCHAI, Taweechai. Characteristics and potential utilizations of starch from pineapple stem waste. **Industrial Crops and Products**, v. 105, p. 74–82, 2017.
- NASCIMENTO, Diego M. et al. Nanocellulose nanocomposite hydrogels: Technological and environmental issues. **Green Chemistry**, v. 20, n. 11, p. 2428–2448, 2018.
- NASRIN, T. A.A. et al. Postharvest quality response of strawberries with aloe vera coating during refrigerated storage. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 92, n. 6, p. 598–605, 2017.
- NDOU, S. P. et al. Dietary supplementation with flaxseed meal and oat hulls modulates intestinal histomorphometric characteristics, digesta- and mucosa-associated microbiota in pigs. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–16, 2018.
- NECHYPORCHUK, Oleksandr; BELGACEM, Mohamed Naceur; BRAS, Julien. Production of cellulose nanofibrils: A review of recent advances. **Industrial Crops and Products**, v. 93, p. 2–25, 2016.

NICOLAU-LAPEÑA, Iolanda et al. Aloe vera gel: An update on its use as a functional edible coating to preserve fruits and vegetables. **Progress in Organic Coatings**, v. 151, p. 106007, 2021.

NOSHIRVANI, Nooshin et al. Starch-PVA Nanocomposite Film Incorporated with Cellulose Nanocrystals and MMT: A Comparative Study. **International Journal of Food Engineering**, v. 12, n. 1, p. 37–48, 2016.

NOVO, Lísias P. et al. Subcritical Water: A Method for Green Production of Cellulose Nanocrystals. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 3, n. 11, p. 2839–2846, 2015.

OLIVEIRA, Jean Paulo De et al. Cellulose fibers extracted from rice and oat husks and their application in hydrogel. **Food Chemistry**, v. 221, p. 153–160, 2017.

OLIVEIRA, Williara Queiroz De et al. Food packaging wastes amid the COVID-19 pandemic: Trends and challenges. **Trends in Food Science and Technology**, In Press, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.027>>.

OWI, Wei Tieng et al. Unveiling the physicochemical properties of natural Citrus aurantifolia crosslinked tapioca starch/nanocellulose bionanocomposites. **Industrial Crops and Products**, v. 139, p. 111548, 2019.

PACE, Bernardo; CEFOLA, Maria. Innovative Preservation Technology for the Fresh Fruit and Vegetables. **Foods**, v. 10, n. 4, p. 719, 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2304-8158/10/4/719>>.

PANIAGUA, Candelas et al. Structural changes in cell wall pectins during strawberry fruit development. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 118, p. 55–63, 2017.

PANOU, Andreas A; KARABAGIAS, Ioannis K; RIGANAKOS, Kyriakos A. Effect of Gamma-Irradiation on Sensory Characteristics, Physicochemical Parameters, and Shelf Life of Strawberries Stored under Refrigeration. **International Journal of Fruit Science**, v. 20, n. 2, p. 191–206, 2020.

PARK, Jung Hyun et al. Comparison of thermal and optical properties and flowability of fossil-based and bio-based polycarbonate. **Macromolecular Research**, v. 25, n. 11, p. 1135–1144, 2017.

PASCHOAL, Giovani B. et al. ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF NANOFIBRILLATED CELLULOSE FROM OAT HULLS. **Química Nova**, v. 38, n. 4, p. 478–482, 2015.

PASSOS, Louise Paiva et al. Aspectos microbiológicos de cenouras minimamente processadas e armazenadas em diferentes embalagens sob refrigeração. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 3, n. 6, p. 0829–0834, 2017.

PELLISSARI, Franciele Maria et al. Nanocomposites based on banana starch reinforced with cellulose nanofibers isolated from banana peels. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 505, p. 154–167, 2017.

PELLISSARI, Franciele Maria et al. **Starch-based edible films and coatings: An eco- friendly alternative for food packaging**. [S.l.]: Elsevier Inc., 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-809440-2.00010-1>>.

PÉREZ-JIMÉNEZ, Jara; VIUDA-MARTOS, Manuel. Introduction to the special issue Byproducts from agri-food industry: New strategies for their revalorization. **Food Research International**, v. 73, p. 1–2, jul. 2015.

PETRASCH, Stefan et al. Grey mould of strawberry, a devastating disease caused by the ubiquitous necrotrophic fungal pathogen *Botrytis cinerea*. **Molecular Plant Pathology**, v. 20, n. 6, p. 877–892, 2019.

PETROUDY, Seyed Rahman D.; RANJBAR, Jalal; RASOOLY GARMAROODY, Esmail. Eco-friendly superabsorbent polymers based on carboxymethyl cellulose strengthened by TEMPO-mediated oxidation wheat straw cellulose nanofiber. **Carbohydrate Polymers**, v. 197, p. 565–575, 2018.

PINZON, Magda I. et al. Increasing shelf life of strawberries (*Fragaria ssp*) by using a banana starch-chitosan-Aloe vera gel composite edible coating. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 55, p. 92–98, 2020.

PUTNIK, Predrag; BURSAC KOVAČEVIĆ, Danijela. Fresh-Cut Apples Spoilage and Predictive Microbial Growth under Modified Atmosphere Packaging. **Food Safety and Protection**. [S.l.: s.n.], 2017. p. 29–46.

QADRI, Ovais Shafiq; YOUSUF, Basharat; SRIVASTAVA, Abhaya Kumar. Fresh-cut fruits and vegetables: Critical factors influencing microbiology and novel approaches to prevent microbial risks—A review. **Cogent Food & Agriculture**, v. 1, n. 1, p. 1121606, 2015.

QAZANFARZADEH, Zeinab; KADIVAR, Mahdi. Properties of whey protein isolate nanocomposite films reinforced with nanocellulose isolated from oat husk. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 1134–1140, 2016.

QIN, Yang et al. Effects of chitin nano-whiskers on the antibacterial and physicochemical properties of maize starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 147, p. 372–378, 2016.

RAJINIPRIYA, Malladi et al. Importance of Agricultural and Industrial Waste in the Field of Nanocellulose and Recent Industrial Developments of Wood Based Nanocellulose: A Review. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 6, n. 3, p. 2807–2828, 2018.

RAMOS, Marina et al. Emulsions Incorporated in Polysaccharide-Based Active Coatings for Fresh and Minimally Processed Vegetables. **Foods (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 3, p. 665, 2021.

RESENDE, N. S. et al. Chitosan/Cellulose Nanofibril Nanocomposite and Its Effect on Quality of Coated Strawberries. **Journal of Food Quality**, v.1, p. 1-13, 2018.

RHIM, Jong Whan; PARK, Hwan Man; HA, Chang Sik. Bio-nanocomposites for food packaging applications. **Progress in Polymer Science**, v. 38, n. 10–11, p. 1629–1652, 2013.

SAITO, Tsuguyuki et al. Cellulose Nanofibers Prepared by TEMPO-Mediated Oxidation of Native Cellulose. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 8, p. 2485–2491, 2007.

SALEHI, Fakhreddin. Edible Coating of Fruits and Vegetables Using Natural Gums: A Review. **International Journal of Fruit Science**, v. 20, n. sup2, p. S570–S589, 2020.

SÁNCHEZ, Rafael et al. Isolation and characterization of lignocellulose nanofibers from different wheat straw pulps. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 92, p. 1025–1033, 2016.

SANTANA, Jamille Santos et al. Cassava starch-based nanocomposites reinforced with cellulose nanofibers extracted from sisal. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 12, p. 1–9, 2017.

SAURABH, Chaturbhuj K. et al. Radiation dose dependent change in physiochemical, mechanical and barrier properties of guar gum based films. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 2, p. 1610–1617, 2013.

SELIGRA, Paula González et al. Biodegradable and non-retrogradable eco-films based on starch-glycerol with citric acid as crosslinking agent. **Carbohydrate Polymers**, v.138, p. 66–74, 2016.

SHAH, Umar et al. Art and Science behind Modified Starch Edible Films and Coatings: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 3, p.568–580, 2016.

SHARMA, Poorva et al. Application of edible coatings on fresh and minimally processed fruits: a review. **Nutrition and Food Science**, v. 49, n. 4, p. 713–738, 2019.

SHARMA, Sahil et al. Effect of Minimal Processing and Packaging on Physico Chemical Composition of Carrots (*Daucus carota*). **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 7, n. 05, p. 3301–3312, 2018.

SHIGEMATSU, Elke et al. Edible coating with probiotic as a quality factor for minimally processed carrots. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 9, p. 3712–3720, 2018.

SIDDIQUI, Mohammed et al. Advances in minimal processing of fruits and vegetables: A review. **Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 70, p. 823–834, 2011.

SONG, Zunyang et al. Combination of nisin and ϵ -polylysine with chitosan coating inhibits the white blush of fresh-cut carrots. **Food Control**, v. 74, p. 34–44, 2017.

STATISTICA. • **Production of oats worldwide 2021/2022** | Statista. Disponível em: <<https://www.statista.com/statistics/1073536/production-of-oats-worldwide/>>. Acesso em: 4 ago. 2021.

TAVARES, Tassia Silva et al. Revestimentos de quitosana na manutenção da qualidade de morango durante o armazenamento refrigerado. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 6, p. 5434–5448, 2019.

THAKUR, Rahul et al. Starch-based films: Major factors affecting their properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 132, p. 1079–1089, 2019.

THOMAS, Ariela Betsy et al. Cassava starch edible coating incorporated with propolis on bioactive compounds in strawberries. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 40, n. 1, p. 87–96, 2016.

TRAVALINI, Ana Paula et al. Cassava starch films reinforced with lignocellulose nanofibers from cassava bagasse. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 139, p. 1151–1161, 2019.

TURQUETT, Lucélia Cristiane Das G. B. et al. Avaliação Da Cobertura Comestível Elaborada a Partir De Quitosana, Farelo De Arroz E Fécula De Mandioca Na Conservação Pós-Colheita De Morangos. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 33153–33171, 2021.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). **Wheat** | USDA Foreign Agricultural. Disponível em: <<https://www.fas.usda.gov/commodities/wheat>>. Acesso em: 16 jun. 2021.

UUSITALO, V; LEINO, M. Neutralizing global warming impacts of crop production using biochar from side flows and buffer zones: A case study of oat production in the boreal climate zone. **Journal of Cleaner Production**, v. 227, p. 48–57, 2019.

VALDEBENITO, F et al. On the nanofibrillation of corn husks and oat hulls fibres. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 528–534, 2017.

VANAPALLI, Kumar Raja et al. Challenges and strategies for effective plastic waste management during and post COVID-19 pandemic. **Science of The Total Environment**, v. 750, p. 141514, 2021.

VASSILEV, Stanislav V. et al. An overview of the organic and inorganic phase composition of biomass. **Fuel**, v. 94, p. 1–33, 2012.

VILARINHO, Fernanda et al. Nanocellulose in green food packaging. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 9, p. 1526–1537, 2018.

VILLAFANE, Fernando. Edible coatings for carrots. **Food Reviews International**, v. 33, n. 1, p. 84–103, 2017.

WANG, Ke et al. The biochemical and molecular mechanisms of softening inhibition by chitosan coating in strawberry fruit (*Fragaria x ananassa*) during cold storage. **Scientia Horticulturae**, v. 271, n. May, p. 109483, 2020.

WANG, Kun et al. Mechanical properties and solubility in water of corn starch-collagen composite films: Effect of starch type and concentrations. **Food Chemistry**, v. 216, p. 209–216, 2017.

WANG, X. et al. Effect of carrot puree edible films on quality preservation of fresh-cut carrots. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, v. 54, n. 1, p. 64–71, 2015.

WARNER, Rachael et al. A Review of Strawberry Photobiology and Fruit Flavonoids in Controlled Environments. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 611893, 2021.

WILSON, Matthew Deas et al. Innovative processes and technologies for modified atmosphere packaging of fresh and fresh-cut fruits and vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 3, p. 411–422, 2019.

XU, Helan et al. Robust and Flexible Films from 100% Starch Cross-Linked by Biobased Disaccharide Derivative. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 3, n. 11, p. 2631–2639, 2015.

XU, Kaimeng et al. Effects of hydrothermal pretreatment on nano-mechanical property of switchgrass cell wall and on energy consumption of isolated lignin-coated cellulose nanofibrils by mechanical grinding. **Industrial Crops and Products**, v. 149, p. 112317, 2020.

XYLIA, Panayiota et al. Quality and safety attributes on shredded carrots by using *Origanum majorana* and ascorbic acid. **Postharvest Biology and Technology**, v. 155, p. 120–129, 2019.

YANG, Shuangqiao; BAI, Shibing; WANG, Qi. Sustainable packaging biocomposites from polylactic acid and wheat straw: Enhanced physical performance by solid state shear milling process. **Composites Science and Technology**, v. 158, p. 34–42, 2018.

YOUSSEF, Ahmed M; KAMEL, S; EL-SAMAHY, M A. Morphological and antibacterial properties of modified paper by PS nanocomposites for packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 1, p. 1166–1172, 2013.

YOUSUF, Basharat; QADRI, Ovais Shafiq; SRIVASTAVA, Abhaya Kumar. Recent developments in shelf-life extension of fresh-cut fruits and vegetables by application of different edible coatings: A review. **LWT - Food Science and Technology**, v. 89, p. 198– 209, 2018.

ZANELA, Juliano et al. Oat Fiber as Reinforcement for Starch/Polyvinyl Alcohol Materials Produced by Injection Molding. **Starch/Staerke**, v. 70, n. 7–8, p. 1–7, 2018.

SEGUNDA PARTE: ARTIGOS

ARTIGO 1: Obtaining cellulosic nanofibrils from oat straw for biocomposite reinforcement: mechanical and barrier properties

*Artigo publicado na revista *Industrial Crops and Products*

Doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112264>

Rafael Carvalho do Lago^a, Ana Lázara Matos de Oliveira^a, Matheus Cordasso Dias^b, Elisângela Elena Nunes de Carvalho^a, Gustavo Henrique Denzin Tonoli^b, Eduardo Valério de Barros Vilas Boas^{a*}

^a Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Cx P. 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brazil.

^b Departamento de Ciências Florestais, Universidade Federal de Lavras, Cx P. 3037, Lavras, MG CEP 37200-000, Brazil.

*Corresponding author. E-mail adress: evbvboas@ufla.br

Abstract

The effect of oat straw nanofibrils addition on the mechanical and barrier properties of bionanocomposites based on cassava starch was evaluated. Nanofibrils were obtained after alkaline treatment of oat straw and consecutive passages in mechanical defibrillator. Five passages through the defibrillator promoted greater reduction in diameter of the nanofibrils and less agglomeration, with a yield of almost 100%. For the preparation of bionanocomposites by casting method, different percentages of oat straw nanofibrils were used: 0%, 10%, 20%, 30% and 50%. The bionanocomposites were evaluated for their mechanical properties (tensile strength, elongation at break, Young's modulus and puncture force) and barrier properties (water vapor permeability, solubility and contact angle), in addition to opacity, color and morphology analyses. The addition of oat straw nanofibrils

29 promoted an increase in stiffness and consequent decrease in the flexibility of
30 bionanocomposites. In relation to barrier properties, there was a reduction in water vapor
31 permeability and water solubility of the bionanocomposites with the increase of oat straw
32 nanofibrils in the formulations. The materials presented hydrophilic character, but with low
33 wettability. The morphological analysis indicated good interaction between the constituents of
34 bionanocomposites. The effects observed in this study were generally pronounced when the
35 addition of oat straw nanofibrils was higher than 30%. Therefore, it is concluded that values
36 of 30 to 50% of oat straw nanofibrils addition promote improvements in the mechanical
37 properties and barrier of bionanocomposites based on cassava starch. The application of
38 elaborate bionanocomposites should be investigated in order to confirm their viability as
39 packaging or even as edible coating, as they may constitute sustainable alternatives to
40 traditional polymers.

41 **Keywords:** nanocellulose; cassava starch; agro-industrial co-products; *Avena sativa*.

42

43 **1. Introduction**

44 Efforts have been made to produce polymeric materials from biodegradable substances
45 to the detriment of conventional petrochemical-based plastics such as polystyrene,
46 polypropylene and polyvinyl chloride, which, while having good mechanical and barrier
47 characteristics such as tensile and tear strength, partial oxygen permeability, carbon dioxide,
48 water vapor and flavorings, impose major environmental restrictions due to their low
49 recyclability, non-renewable resource derivability and non-biodegradability, leading to
50 serious ecological problems (Saurabh et al., 2013). The main challenge is to develop
51 biopolymers that have characteristics similar to conventional materials, especially in terms of
52 mechanical and barrier properties.

53 Among the biopolymers stand out as potential raw materials for the elaboration of
54 biodegradable films and coatings, there are lipids, proteins and polysaccharides, proven
55 alternative sources for the conservation of food, due to their good barrier properties to water
56 vapor (Turhan; Shahbaz, 2004). Starch is one of the most widely used biopolymers in
57 packaging for food and edible coatings, due to its low cost and abundance in nature, as well as
58 being easy to handle and made of biodegradable material (Parra et al., 2004). Although it has

59 numerous advantages, starch has poor mechanical properties, such as low flexibility and
60 resistance (Assis et al., 2012; Mathew, 2008).

61 A class of materials with improved barrier, mechanical and thermal properties emerges
62 as a promising option in improving the properties of biopolymer-based packaging materials.
63 Bionanocomposites consist of a matrix of biopolymer reinforced with particles (nanoparticles)
64 with at least one dimension in the nanoscale range (1-100 nm). They exhibit increased barrier
65 properties, higher mechanical strength and better heat resistance compared to their pure
66 polymers and conventional composites (Rhim et al., 2013). In this context, the use of
67 cellulosic nanofibrils as reinforcement of bionanocomposites has been the object of frequent
68 study.

69 Nanofibrils are rigid cellulosic microfibrils coupled to the hemicellulosic matrix that,
70 when submitted to chemical, physical and other treatments, can be transversely cleaved along
71 the amorphous regions, resulting in a material with high aspect ratio (ratio between length and
72 width), high specific surface area ($> 100 \text{ m}^2/\text{g}$) and an almost perfect crystalline arrangement,
73 which make them excellent low cost and non-toxic reinforcing agents (Chang et al., 2010;
74 Gardner et al., 2008). In addition, cellulosic nanofibrils can be obtained from agro-industrial
75 co-products, which generally have low added value and are an environmental problem. These
76 co-products are excellent sources of sustainable and renewable cellulose, given their high
77 availability, since agricultural and forestry activities are common throughout the world
78 (García et al., 2016; Kallel et al., 2016, Novo et al., 2015).

79 Oats (*Avena sativa*) are among the five most cultivated crops in the world, and are
80 mostly used for human consumption and nutrition. The quantity of oat co-products is on an
81 increasing scale due to the high production of this raw material, which is an environmental
82 problem when they are improperly discarded (Oliveira et al., 2017). Namely, the process of
83 peeling and grinding oat grains generates around 20% of shells (Uusitalo; Leino, 2019).
84 Another destination of oat husks and other agro-industrial co-products is animal feed, due to
85 the high content of fibers that assist in digestion and nutrition and as forage (Ndou et al.,
86 2018). According to Oliveira et al. (2017), oat grain hulls have about 40.1% of cellulosic
87 material with good thermal stability. Espinosa et al. (2017) confirmed oat straw as a potential
88 raw material for obtaining nanofibers of lignocellulose, showing its composition, poor in
89 lignin and with a high percentage of hemicellulose.

90 The development of biopolymers based on a source of native starch reinforced with
91 nanofibrils obtained from oat straw is a way to add value to an agro-industrial co-product (oat
92 straw) while using a raw material that is cheap and easy to find in nature (cassava starch).
93 With this, it may be possible to obtain cheap and sustainable material that constitutes an
94 alternative to traditional petrochemical-based polymers.

95 Therefore, the objective of this work was to obtain cellulosic nanofibrils from oat
96 straw and to investigate their applicability as enhancers of mechanical properties and barrier
97 of cassava starch-based bionanocomposites, determining the best concentrations.

98 **2. Material and methods**

99 **2.1 Material**

100 The oat straw was supplied by SL Alimentos/LTDA. Cassava starch was purchased
101 from local businesses in Lavras, Minas Gerais, Brazil. The 70% sorbitol solution was
102 purchased from Dinâmica® , Piracicaba - SP, Brazil.

103 **2.2 Preparation of oat straw nanofibrils**

104 Initially, the oat straw was washed with potable water and then dried in an oven with
105 air circulation at 60°C for 24 hours. Then, they were crushed in a knife mill, and passed
106 through Mesh sieves n°40, to obtain oat straw flour. The oat straw flour was then submitted to
107 a treatment with alkaline solution, as proposed by Oliveira et al. (2017), with modifications. A
108 mixture with distilled water containing 5% (w/v) of oat straw flour and 5% sodium hydroxide
109 (NaOH) was prepared and subjected to stirring at 400 rpm for 4 h in a water bath at 80°C.
110 Subsequently, a wash was performed with distilled water until the washing water reached
111 neutral pH. The product obtained was dried in an oven with air circulation at 65 °C up to
112 constant weight. Finally, a suspension was prepared with distilled water containing 2% (w/v)
113 of treated oat straw. After resting for seven days, the suspension was submitted to consecutive
114 passages in a microfibrillator - Super Masscolloider®, model MKCA6 - 2J, Kawguchi, Japan,
115 to obtain the cellulose nanofibrils gels. Fig.1 illustrates the flowchart for obtaining the oat
116 straw nanofibril gel.

117 < Fig.1 >

118 **2.3 Production of bionanocomposites**

119 To prepare the filmogenic solution, the methodology proposed by Guimarães et al.
120 (2015) was followed, with modifications. A 3% solution of cassava starch was prepared in
121 distilled water. The amount of plasticizer (sorbitol) added was 30% in relation to the mass of
122 starch. The preparation of the films followed the method called casting. At first, the 3%
123 cassava starch solution was submitted to hydration, under slow agitation, for 24 hours, at
124 room temperature. Once hydrated, sorbitol was added to the solution and heating at 80°C was
125 performed under stirring for 20 minutes for gelatinization to occur. For the preparation of
126 bionanocomposites, different concentrations (10, 20, 30 and 50%, in relation to the solid mass
127 of the film) of oat straw nanofibrils were added to the starch and sorbitol solution under
128 mechanical stirring at 750 rpm for 15 minutes and homogenized at 15000 rpm for 20 minutes
129 in magnetic stirrer Kasvi®, model K40-181OH, Korea. Subsequently, the solutions
130 containing nanofibrils were submitted to sonication for 1h, at 750w and amplitude of 40%.
131 About 40g of the filmogenic solutions (control and addition of nanofibrils) were poured into
132 acrylic plates and left in an air-conditioned environment at 20°C±1, with 60%±1 relative
133 humidity, for 10 days, for drying and moisture stabilization. After this period, the films were
134 removed from the plates and stored in plastic bags, separated by paper, for analysis.

135 **2.4 Analysis**

136 **2.4.1 Transmission Electronic Microscopy (TEM)**

137 A transmission electron microscope was used to evaluate the morphology of oat straw
138 nanofibrils. Aqueous suspensions containing 0.6% of oat straw nanofibrils from different
139 passages in the microfibrillator (one, three and five passages, respectively) and 2% of uranyl
140 acetate 1.5% were submitted to sonication for 20 minutes. A drop of the suspension was
141 deposited on copper microgrids (400 mesh) containing FORMVAR, which were dried at
142 room temperature. The images were obtained using an EM 109 transmission electron
143 microscope (Zeiss®) with a voltage of about 100 kV. The diameter of the nanofibrils was
144 measured using the ImageJ 1.47V® software, and 100 measurements were taken for each
145 treatment (each passage in the microfibrillator).

146 **2.4.2 Yield of cellulose nanofibrils**

147 The method proposed by Besbes et al. (2011), with adaptations, was used to calculate
148 the yield of cellulose nanofibrils obtained from oat straw. Samples of 0.2% nanofibril gel
149 suspension were prepared and centrifuged at 4500 rpm for 20 minutes to separate the

150 nanofibrillated material (supernatant fraction) from the non-nanofibrillated and partially
 151 nanofibrillated material (sedimented fraction). The sedimented fraction was collected and
 152 dried in an oven at 105°C until constant weight. The yield of cellulose nanofibrils was
 153 calculated from Eq.(1). The analysis was performed in five replicates.

$$154 \text{ Yield (\%)} = 1 - \left(\frac{\text{weight of dried sediment}}{\text{weight of the diluted gel sample} \times \%Sc} \right) \times 100$$

155 (1)

156 Where: %Sc: solid content of the diluted gel sample. The solid content was obtained by
 157 difference of total moisture content, obtained by gravimetry, according to AOAC (2012) (data
 158 not presented).

159 **2.4.3 Scanning Electronic Microscopy (SEM)**

160 The Leo Evo 40 XVP scanning electron microscope was used to characterize the
 161 morphology of oat straw fibers in their natural state and after alkaline treatment, as well as
 162 prepared bionanocomposites. For this purpose, the oat straw fibers (natural and treated) were
 163 fixed to the specimen holders ("stubs") with double-sided adhesive tapes, submitted to
 164 metallization in a SCD 050 gold evaporator and analyzed under the microscope. For the
 165 bionanocomposites, the samples were immersed in liquid nitrogen for rapid freezing,
 166 fractured and fixed in stubs. Then, they were submitted to metallization and taken under a
 167 microscope to obtain the micrographs, and images of the surface and the transversal region
 168 were obtained.

169 **2.4.4 Colouring, apparent opacity and thickness of bionocomposites**

170 The colorimetric analysis of bionanocomposites was performed on a colorimeter
 171 (Konica Minolta®, CM-5, Osaka, Japan), at a 10° angle of view and D65 illuminant
 172 (daylight), according to Hunterlab methods, described by Sousa et al. (2013). Twenty
 173 readings were taken for each treatment, and the instrumental color parameters (L*, a*, b*, C*,
 174 hue) were determined. Sample opacity (Y) was calculated as the relationship between the
 175 opacity of the sample placed on the black standard (Yp) and the opacity of the sample placed
 176 on the white standard (Yb) (Eq.(2)) (Sousa et al.,2013) - Y corresponds to the value of L*.
 177 The apparent opacity was divided by the thickness of each sample (E), in view of the variation
 178 in measurements. The results were expressed in a scale from 0 to 1% μm^{-1} . To determine the

179 thickness of the bionanocomposites, a flat tip micrometer with a resolution of 0.001 mm was
 180 used, according to the method described by Sousa et al. (2013).

181

$$182 \quad Y = \frac{\left(\frac{Y_p}{Y_b} * 100\right)}{E} \quad (2)$$

183

184 **2.4.5 Mechanical properties**

185 The mechanical properties of traction and rupture were determined in a texturometer
 186 (Stable Micro Systems, TATX2i, England), based on the methodology of the American
 187 Society for Testing and Material - ASTM D882-00 (ASTM, 2002), with adaptations. For the
 188 tensile test, the specimens were cut in dimensions of 25 x 100 mm and adjusted to the
 189 pneumatic claws (A/TG) of the equipment. The distance between the claws was 50 mm and
 190 the tensile speed was 0.8 mm s⁻¹. The parameters determined were tensile strength (MPa),
 191 elongation at rupture (%) and Young's modulus (MPa). For the puncture test, the specimens
 192 were cut in dimensions of 30 x 30 mm and adjusted to the support for the probe (p/S5) of 5
 193 mm of contact area with the film of the equipment. The distance between the probe and the
 194 specimen was manually adjusted and the test speed was 0.8 mm s⁻¹, by which the puncture
 195 force parameter (N) was determined.

196 **2.4.6 Water vapour permeability (WVP)**

197 The water vapour permeability (WVP) of bionanocomposites was determined by the
 198 gravimetric method, according to the procedure described in ASTM E96-E96M-16 (ASTM,
 199 2016), with adaptations. Glass vials of 40 mL and with openings in the lid of 13.8 mm in
 200 diameter were used, with ¾ of its volume containing previously dried silica for 24 hours at
 201 150°C. Samples of the bionanocomposites, with known thicknesses, were cut with areas
 202 corresponding to the opening of the lid and applied between the lids and the vials, with
 203 silicone sealant (Fig.2a). The vials were placed in hermetic desiccators containing saturated
 204 sodium chloride (NaCl) solution to promote relative humidity of 75% (Fig 2b). The
 205 experiment was conducted in a controlled environment at 20 ± 0.5°C. The flasks were
 206 weighed every 24 hours for a period of seven days. A calibration curve was constructed,
 207 considering the weight gain of the silica over the evaluation time. From then on, the water
 208 vapor permeability rate (WVPR) was calculated, according to Eq.(3). Finally, water vapor

209 permeability (WVP) was calculated using Eq.(4) (Bourtoon; Chinnan, 2008; Tetens, 1930).
 210 Five repetitions were performed for each treatment.

$$211 \quad WVPR (g m^2 dia^{-1}) = gt \times A$$

212 (3)

213 Where: gt is the angular coefficient of the straight equation (linear regression) and A is the
 214 permeation area (m^2).

215

216

$$217 \quad WVP (g mm/kPa^{-1} dia^{-1} m^2) = (WVPR \times E)/\Delta p$$

218 (4)

219 Where: E is the thickness of the specimen (mm) and Δp is the vapour saturation pressure at
 220 the test temperature (2.33921kPa).

221 < Fig.2 >

222 **2.4.7 Solubility in water**

223 The solubility of bionanocomposites in water was determined according to the method
 224 proposed by Gontard et al. (1994). Test specimens of 2 cm in diameter were cut and dried in
 225 an air circulation oven at 55°C up to constant weight. The dry discs were immersed in 30 mL
 226 of distilled water and kept under slow stirring (50 rpm) for 24 h at 25°C. After this period, the
 227 resulting suspensions were filtered and the unsolubilized materials were dried in an incubator
 228 with air circulation at 105°C for 24 h and weighed afterwards. Five specimens were used for
 229 each formulation. Solubility (S) was calculated by Eq.(5) and expressed as a percentage.

$$230 \quad S(\%) = \left(\frac{PI - PF}{PI} \right) * 100 \quad (5)$$

231

232 Where: PI is the initial mass of the dry material and PF is the final mass of the unsolubilized
 233 dry material.

234 **2.4.8 Contact angle**

235 The contact angle of the bionanocomposites was determined using a goniometer
236 (Kruss, DSA25, Hamburg, Germany), with image acquisition and measurement of contact
237 angle values by Advanced software (Kruss, Hamburg, Germany) equipped with a micro
238 camera, operated in air and at room temperature. Samples with dimensions of 2.5 cm x 1.0 cm
239 were fixed on a glass slide and placed at the base of the equipment. A drop of water was
240 applied to the specimens. The images were captured by the equipment and converted to
241 Excel®. For each film, the wettability was deducted as the mean value of the contact angle
242 measured on both sides of the drop and as a function of the measured time (20s) (Silva et al.,
243 2007).

244 **2.5 Experimental design and statistical analysis**

245 A completely randomized design (CRD) was used, with five factors addition of oat
246 straw nanofibrils (0%, 10%, 20%, 30% and 50%) to the prepared bionanocomposites. For
247 each treatment, three repetitions were performed, one consisting of 100 mL of filmogenic
248 solution, with a mean yield of three bionanocomposite discs. The data were submitted to
249 analysis of variance (ANOVA), mean, standard deviation and Principal Component Analysis
250 (PCA). The means were compared by Tukey's test ($P < 0.05$), using the R Studio software
251 (2015).

252 **3. Results and discussion**

253 **3.1 Characterisation of oat straw nanofibrils**

254 **3.1.1 Morphology**

255 Fig.3 shows the micrographs obtained in SEM for oat straw in natura and after
256 treatment with NaOH and in TEM for oat straw nanofibrils obtained after one, three and five
257 passes through the defibrillator, respectively.

258 < Fig.3 >

259 It is possible to observe that the treatment with NaOH contributed to the
260 individualization of the fibrous bundles (Fig.3b), which, at first, were united, forming a
261 compact structure, which can be observed in the micrograph of the straw in its natural state
262 (Fig.3a). This indicates that the alkaline treatment was effective for the removal of
263 components such as hemicelluloses and lignin, responsible for joining the fiber bundles
264 (Campos et al., 2011). In relation to defibrillation, it is noted that the consecutive passes

265 through the defibrillator promoted greater individualization of nanofibrils, reducing
266 agglomerations (Fig.3c-e). According to Guimarães et al. (2016), lower aggregation of
267 nanofibrils enables better interaction with the polymeric matrix, through hydrogen bonds,
268 culminating in better mechanical and barrier properties, thus being favorable for the
269 preparation of bionanocomposites.

270 The reduction in the diameter of oat straw nanofibrils throughout the treatments is
271 evidenced by the diameter distribution graphs (Fig.4).

272 < Fig.4 >

273 The diameter of the fresh oat straw fibers was all in micrometric scale, ranging from
274 19,07 μm to 395,23 μm (Fig.4a). As previously discussed, the alkaline treatment with NaOH
275 promoted greater individualization, allowing the individual measurement of the diameter of the
276 fibrous bundles, which ranged from 2,15 μm to 11,63 μm (Fig.4b). The first passage through
277 the defibrillator was enough to obtain some material in the nanometer scale. The nanofibril
278 diameter measurements ranged from 10 to 143 nm in the first pass, from 6 to 130 nm in the
279 third and from 5 to 44 nm in the fifth pass (Fig.4c-e). The mean diameter fell from 51,09 \pm
280 34,28 nm in the first passage to 20,31 \pm 8,09 nm in the fifth passage through the defibrillator,
281 a reduction of about 60%. It is also worth mentioning that in this last passage, one hundred
282 percent of the measurements obtained were in the nanometer scale (1-100 nm). According to
283 Zhou et al.(2012), nanofibrils with this diameter range are made of material with high aspect
284 ratio, being suitable for strengthening polymers.

285 The gel obtained by the five passages in a microfibrillator presented greater
286 individualization of the cellulosic microfibrils and a higher percentage of material in a
287 nanometric scale, and was therefore used for the preparation of bionanocomposites.

288 3.1.2 Yield

289 Cellulose nanofibrils obtained from oat straw showed an average yield of 99,59 \pm
290 0,18%, i.e., almost one hundred percent of the cellulose obtained was nanofibrilled. This
291 result proves the effectiveness of the treatment with NaOH and the five passages through the
292 microfibrillator to obtain nanofibrillated material.

293 3.2 Characterisation of bionocomposites

294 The films obtained by the casting method were visually homogeneous, without the
295 presence of cracks (Fig 5), and can be easily removed from the acrylic plates.

296 < Fig.5 >

297 **3.2.1 Colouring, thickness and apparent opacity**

298 Table 1 shows the data regarding thickness, opacity and colouring of
299 bionanocomposites.

300 < Table 1 >

301 The mean thickness of the bionanocomposites ranged from 0.0705 to 0.104 mm, with
302 a reduction in the values with the addition of oat straw nanofibrils. Although the observed
303 thickness values are in accordance with those reported in the literature for films obtained by
304 the casting method (Guimarães et al., 2015; Guimarães et al., 2016; Luchese et al., 2018) the
305 behavior goes against that observed by these authors, who found an increase in the thickness
306 of bionanocomposites with the increase of nanofibrils. The behavior observed in this study
307 can be attributed to the high concentration of added nanofibrils, which culminates in a higher
308 mass/volume ratio. Therefore, as the mass amount of filmic solution poured into the plates
309 was the same for all treatments, those with higher nanofibril content contained lower volume
310 of solution, which may explain the lower thickness values. Film thickness is an extremely
311 important parameter because it directly influences the mechanical, optical and gas
312 permeability properties (Galdeano et al., 2013; Mali et al., 2004). According to Tharantharn
313 (2003), films for edible coatings should be less than 0.3 mm thick. There was a significant
314 and constant increase in the apparent opacity values of bionanocomposites from 20% addition
315 of oat straw nanofibrils. According to Sarantópoulos et al. (2002), crystalline regions reflect
316 or divert the incident light beam, compromising light transmission, which provides greater
317 opacity. This behavior can be attributed, therefore, to the high crystallinity, characteristic of
318 cellulosic nanofibrils, to the detriment of gelatinized starches, which present low crystallinity
319 and, therefore, lower opacity. Although it directly affects the appearance of the coated
320 product, opacity is an important element to control the incidence of light in a food, being a
321 relevant property in bionanocomposites, especially those intended for application as edible
322 coating (Cunha et al., 2009). The behavior observed in the apparent opacity analysis is
323 evidenced by the values of L^* , which decreased as the percentage of nanofibrils in
324 formulations increased, indicating a decrease in the transparency of bionanocomposites. The

325 increase in C* and Hue values indicates an increase in the intensity of the yellowish color of
326 the bionanocomposites with the increase in the content of oat straw nanofibrils, which can be
327 visually confirmed with the naked eye.

328 **3.2.2 Mechanical properties**

329 Fig.6 shows the mechanical properties of bionanocomposites. An example of the
330 stress vs strain curve is given in Fig.7.

331 The addition of oat straw nanofibrils provided greater stiffness to the
332 bionanocomposites, which can be seen by the values of Tensile Strength and Young's Module
333 (Fig.6a and Fig.6c), parameters directly associated with stiffness. An increase in the values of
334 these parameters can be observed, proportional to the addition of nanofibrils of oat straw, the
335 highest averages being reached by formulations with maximum addition of nanofibrils (50%).
336 The results obtained for Tensile Strength (RT) and Young's Module (MY) were similar or
337 superior to those presented by Low Density Polyethylene (LDPE) (RT = 6.9 to 16 MPa; MY
338 = 102 to 240 MPa) and High Impact Polystyrene (RT = 21.06 MPa; MY = 354.7 MPa),
339 polymers traditionally used in the food industry and agricultural sector (Doak, 1986; Machado
340 et al., 2017). Thus, the improvement in the resistance properties of bionanocomposites based
341 on cassava starch is confirmed with the addition of oat straw nanofibrils. The improvement in
342 resistance parameters represents clear evidence of the good dispersibility of nanofibrils in the
343 polymeric matrix, as reported by Makaremi et al. (2017) and Bertolino et al. (2016), who
344 studied the incorporation of hallosyte nanotubes in bionanocomposites.

345 Reverse behavior was observed for elongation at break, with a marked decrease in
346 values due to the increase in oat straw nanofibrils (Fig.6c). Such behavior was also reported
347 by Guimarães et al. (2016), who observed a decrease in the rupture angle with the increase of
348 carrot nanofibrils in the starch-based bionanocomposites formulation, when the addition was
349 40%. Abrupt reduction was also observed by Silva et al. (2012), who found a reduction from
350 180.44% to 27.29% in elongation values for biopolymers of cassava starch plus eucalyptus
351 cellulose nanocrystals. According to Reddy and Rhim (2014), the decrease in film elasticity
352 may be related to the higher concentration of nanocellulose, which culminates in restriction of
353 the mobility of polymer chains and, consequently, in increased stiffness. In addition, it is
354 worth mentioning that the amount of plasticizer used in this study remained constant, despite
355 the content of added nanofibrils, since it was added in relation to the mass of the polymer.
356 Thus, it is suggested that the increase in the total mass of the filmogenic solution, with the

357 increase of the nanofibrils, has promoted dissolution of the plasticizer, reducing its elastic
358 effect on the bionanocomposites. In fact, according to Gaudin et al. (1999; 2000), in low
359 concentrations and reduced values of water activity, plasticizers can exert an opposite effect,
360 or antiplasticizer; that is, instead of increasing the molecular mobility between the starch
361 chains, it binds strongly to them, increasing the degree of interaction and, consequently, the
362 mechanical strength and stiffness of these materials. Although there has been a marked
363 decrease in elongation at break by the addition of oat straw nanofibrils, no significant
364 difference is observed between the different percentages of addition.

365 In relation to the puncture force, there was a decrease in the values, in relation to the
366 control, with the addition of 10% of nanofibrils of oat straw. Improvement in this parameter
367 was observed with the increase of the nanofibrils, being the sample with maximum addition
368 (50%) the one that obtained the highest value. The lower performance presented by the
369 treatment with the addition of 10% of oat straw nanofibrils may be associated with possible
370 isolated agglomerations or insufficient amount of linked nanofibrils, considering the lower
371 concentration of nanofibrils of this treatment (Guimarães et al., 2015).

372 In short, the increase of oat straw nanofibrils promoted greater stiffness, while
373 reducing the elasticity of bionanocomposites.

374 **3.2.3 WVP, solubility and contact angle**

375 The values of water vapor permeability, water solubility and contact angle of
376 bionanocomposites are shown in Table 2.

377 <Table 2>

378 A significant reduction in water vapor permeability of bionanocomposites was
379 observed with the increase of nanofibrils of oat straw, with a pronounced reduction with 30%
380 addition and reaching the highest average with the maximum value of nanofibrils addition
381 (50%). Cellulosic nanofibrils have the ability to form percolated and continuous hydrogen
382 bonding networks, which reduce the diffusion of water vapor; therefore, it is coherent that
383 there is a decrease in water vapor permeability values with the increase of nanofibrils
384 (Sreekala et al., 2008; Lai; Padua, 1998; Kaushik et al., 2010). Since one of the main
385 functions of food packaging is to prevent or minimize the transfer of moisture between food
386 and the surrounding atmosphere, the permeability to water vapor should be as low as possible
387 in order to optimize the environment and potentially increase the shelf life of the product

388 (Hosseini et al. 2013). Materials with low water vapor permeability values are indicated for
389 application in dry products, whose contact with moisture should be restricted, or even for
390 coating vegetables with high respiratory rate, in which degradation occurs essentially by water
391 loss (Mali et al., 2010; Assis; Brito, 2011).

392 Increased solubility in water is observed in bionanocomposites with additions of up to
393 10% of oat straw nanofibrils. However, the gradual increase in the concentration of
394 nanofibrils indicated a tendency for a drop in solubility, with the treatment with 50% addition
395 of oat straw nanofibrils showing less solubility in water than the other treatments and control.
396 A similar behavior was reported by Guimarães et al. (2015), who observed increased
397 solubility in water of cassava starch-based films with the addition of small amounts of
398 bamboo nanofibrils, while the increase in nanofibrile concentrations contributed to the
399 reduction of solubility. This behavior corroborates what was observed in the puncture force
400 analysis, in which the formulations with lower concentrations of oat straw nanofibrils (up to
401 10%) showed lower performance, which was improved with the increase in nanofibrils. As
402 already suggested, the lower performance presented by these treatments can be attributed to
403 possible isolated agglomerations of nanofibrils or insufficient amount of linked nanofibrils.
404 Percolated hydrogen bonding networks formed by cellulosic nanofibrils restrict the mobility
405 of amylopectin molecules in the matrix and, consequently, the affinity for water, which
406 explains the reduction in solubility by increasing the nanofibrils (Svagan et al., 2009). In the
407 same way as for water vapor permeability, low water solubility values are favorable for the
408 use of bionanocomposites as packaging or coatings for food, especially those that will be
409 stored for a considerable period of time, because it ensures good protection against the
410 external environment and, consequently, extension of the useful life of the product (Matta et
411 al., 2011).

412 In relation to the contact angle, a slight reduction in averages is observed with the
413 addition of oat straw nanofibrils. The contact angle values are associated with the wettability
414 of the sample, determining its hydrophilic or hydrophobic character. According to Ferreira's
415 classification (2013), films with contact angle values lower than 90° are considered
416 hydrophilic, while those with values higher than 90° are considered hydrophobic. Thus, it can
417 be stated that the addition of oat straw nanofibrils determined hydrophilic characteristic to the
418 bionanocomposites, reducing the contact angle values. The averages obtained for the contact
419 angle were similar among the different percentages of oat straw nanofibrils addition, although
420 a tendency to increase the values from 30% of addition can be observed. The behavior

421 observed for the contact angle analysis corroborates those obtained for the water vapor
422 permeability and solubility analyses, which point to an improvement in the barrier properties
423 of bionanocomposites with the addition of larger quantities of oat straw nanofibrils. In fact,
424 Svagan et al.(2009) determined the water vapor diffusivity in starch films with the addition of
425 cellulose nanofibrils and found a decrease in diffusivity with the increase of the
426 nanofibrile/matrix ratio, which explains the behavior presented in this study.

427 Graph of the variation of the contact angle values of bionanocomposites throughout
428 the test time is provided in Fig.8.

429 <Fig.8>

430 A sharp drop in the values can be observed in the first seconds of the analysis, with
431 little variation in the rest of the time, which indicates low wettability of the surfaces. The
432 images of the water droplets applied on the surfaces at the beginning ($t = 0s$) and at the end of
433 the analysis ($t = 20s$) show that there was no visually perceptible change in the shape of the
434 droplets, which shows the low wettability of the surfaces of the elaborated
435 bionanocomposites, despite the treatment. This result indicates good water barrier properties
436 of elaborated bionanocomposites, as already demonstrated in WVP analysis.

437 Regarding the barrier properties, the addition of oat straw nanofibrils, in general,
438 promoted a reduction in water vapor permeability and water solubility of the
439 bionanocomposites. As for the contact angle, the formulations presented hydrophilic
440 characteristic, typical of cellulosic materials, but with low wettability.

441 **3.2.4 Morphology**

442 Fig.9 shows the micrographs obtained in SEM for the surfaces and transversal regions
443 of the bionanocomposites.

444 < Fig.9 >

445 It is possible to observe some roughness on the surface and transversal section of the
446 control film (Fig 9a-b), probably due to the agglomeration of starch granules and their
447 fragments. This can be explained by the fact that while the filmogenic solution is being
448 dehydrated to form the films, due to the driving force of water evaporation, a large number of
449 expanded starch granules and their reminiscences are randomly added and compacted to
450 compose the films (Liu; Han, 2005).

451 The added films of oat straw nanofibrils were characterized by the rough surface
452 characteristic of cellulose. In the formulation with 10% addition of nanofibrils it was possible
453 to observe the presence of isolated agglomerates in the transversal section images (Fig.9d).
454 This result confirms the hypothesis raised to explain the lower performance of this treatment
455 in the analysis of puncture force and water solubility; in view of the lower content of
456 nanofibrils in this formulation compared to other treatments, there was a tendency to isolated
457 agglomerations. The amount of nanofibrils in this treatment was not sufficient, therefore, to
458 form a continuous network of hydrogen bonds along the entire surface of the film, which
459 contributed to the drop in puncture force and increased solubility in water. The film with
460 maximum nanofibril concentration (50%) has a more regular and continuous surface than the
461 other treatments (Fig.10i). It is suggested that the high content of nanocellulosic material in
462 this treatment, contrary to what was observed for the treatment with 10% addition, has formed
463 a strong and continuous network of hydrogen bonds, with lower agglomeration index
464 (Lavoine et al., 2012; Ferrer et al., 2017). This observation is consistent with the data on
465 mechanical properties, water vapor permeability and solubility, in which the treatment with
466 50% of nanofibrils presented more satisfactory results.

467 **3.5. Principal Components Analysis**

468 In order to illustrate the main effects of adding oat straw nanofibrils on the properties
469 of bionanocomposites, the Principal Components Analysis (PCA) was performed, which can
470 be seen in Fig.10.

471 < Fig.10 >

472 In general, a negative correlation is observed between the parameters related to
473 stiffness (Tensile strength, Young's modulus and puncture force) and elongation at break,
474 which shows that the increase in stiffness of bionanocomposites has as consequence the
475 decrease in elasticity. Reverse proportionality is also observed between opacity and L* value,
476 i.e., the more opaque the material, the lower its clarity. Regarding the different treatments, it
477 is noted that the formulations with higher percentage of addition of oat straw nanofibrils (30
478 to 50% of addition) are associated with higher values of puncture strength, opacity, Stress in
479 rupture and Young's Modulus, while the control formulation is characterized by higher
480 permeability to water vapor and elongation in rupture. This result shows the main effects of
481 the addition of oat straw nanofibrils on the properties of bionanocomposites, effects that
482 correspond to the reduction of water vapor permeability and increased stiffness, with

483 consequent decrease in elongation. It is worth mentioning that such effects were more
484 pronounced when the addition of nanofibrils was above 20%, and the bionanocomposites with
485 lower values of nanofibrils showed lower performance in relation to the control film in most
486 of the analyses.

487 Based on the results, additions of 30 to 50% of oat straw nanofibrils are more
488 favorable for the improvement of mechanical and barrier properties of bionanocomposites
489 based on cassava starch, because they are associated with higher values of Tensile Strength,
490 Young's Modulus and Puncture force and lower rates of water vapor permeability and
491 percentage of solubility, which provides greater protection to the food product. The
492 application of elaborate bionanocomposites should be investigated in order to confirm their
493 viability as packaging or even as edible coating, which may constitute sustainable alternatives
494 to traditional polymers.

495 **4. Conclusions**

496 Obtaining cellulosic nanofibrils from oat straw is feasible, and alkaline treatment with
497 NaOH and five passages in the defibrillator are effective to obtain material with reduced
498 diameter, lower agglomeration index and high yield.

499 The addition of oat straw nanofibrils promotes improvement in the mechanical
500 properties and barrier of bionanocomposites based on cassava starch, by increasing stiffness
501 and reducing permeability to water vapor and solubility in water, these effects being more
502 pronounced when the percentage of addition is between 30 and 50%.

503 The application of elaborate bionanocomposites should be investigated in order to
504 confirm their viability as packaging or even as edible coating, which may constitute
505 sustainable alternatives to traditional polymers.

506 **Acknowledgments**

507 Authors thank to Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais
508 (FAPEMIG), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and
509 Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Thanks also to
510 PPGCA (UFLA), LME (UFLA), DCF (UFLA) and DCA (UFLA).

511 **References**

- 512 American Society for Testing and Materials, 2000. Standard test methods for water vapor
513 transmission of materials In: ASTM e96-00, Philadelphia.
- 514 American Society for Testing and Materials, 2000. Standard test methods for tensile
515 properties of thin plastic sheeting, In: ASTM d882-00, Philadelphia.
- 516 AOAC - Association of Official Analytical Chemists, 2012. Official Methods of Analysis, 19
517 ed.,USA: Washington D.C. 3000 p.
- 518 Assis, LM, Zavareze, ER, Prentice-Hernández, C, Souza-Soares, LA, 2012. Review:
519 Characteristics of nanoparticles and their potential applications in foods. Brazilian Journal of
520 Food Technology, Campinas. 15, 99-109.
- 521 Assis, OBG, Britto, D, 2011. Evaluation of the antifungal properties of chitosan coating on
522 cut apples using a non-invasive image analysis technique. Polymer International. 60, 932-936.
- 523 Bertolino, V, Cavallaro, G, Lazzara, G, Merli, M, Milioto, S, Parisi, F, Sciascia, L, 2016. Ind.
524 Eng. Chem. Res. 55, 7373-7380.
- 525 Besbes, I, Alila, S, Boufi, S, 2011. Nanofibrillated cellulose from TEMPO-oxidized
526 eucalyptus fibres: Effect of the carboxyl content. Carbohydrate Polymers. 84, 975-983.
- 527 Bourtoon, T, Chinnan, MS, 2008. Preparation and properties of rice starch/chitosan blend
528 biodegradable film. LWT Food Sci. Technol. 141, 1633–1664.
- 529 Campos, A, Teodoro, KBR, Marconcini, JM, Mattoso, LHC, Martins-Franchetti, SM, 2011.
530 Efeito do tratamento das fibras nas propriedades do biocompósito de amido
531 termoplástico/policaprolactona/sisal. Polímeros. 21, 217-222.
- 532 Chang, PR, Jian, R, Yu, J, Ma, X, 2010. Starch-based composites reinforced with novel chitin
533 nanoparticles. Carbohydr. Polym. 80, 421–426.
- 534 Cunha, MGC, Cerqueira, Ma, Souza, BWS, Souza, MP, Teixeira, JA, Vicente, AA, 2009.
535 Physical properties of edible coatings and films made with a polysaccharide from *Anacardium*
536 *occidentale* L. Journal of Food Engineering. 95, 379-385.

- 537 Doak, KW, 1986. Ethylene Polymers. In: Mark, H.M., Bilakes, N.M., Overberg, C.G.,
538 Mendes, G. (Eds.), Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, 6. John-Wiley &
539 Sons, New York.
- 540 Espinosa, E, Sánchez, R, Otero, R, Domínguez-Robles, J, Rodríguez, A, 2017. A comparative
541 study of the suitability of different cereal straws for lignocellulose nanofibers isolation. Int J
542 Biol Macromol. 103, 990-999.
- 543 Ferreira, LMV (2013), “Revestimentos Hidrofóbicos”, Dissertação de Mestrado,
544 FCT/Universidade Nova de Lisboa. Lisboa, Portugal.
- 545 Ferrer, A, Pal, L, Hubbe, M, 2017. Nanocellulose in packaging: advances in barrier layer
546 technologies. Industrial Crops and Products, 95, 574-582.
- 547 Galdeano, MC, Wilhelm, AE, Mali, S, Grossmann, MVE, 2013. Influence of thickness on
548 properties of plasticized oat starch films. Brazilian Archives of Biology and Technology. 56,
549 637-644
- 550 García, A, Gandini, A, Labidi, J, Belgacem, N, Bras, J, 2016. Industrial and crop wastes: A
551 new source for nanocellulose biorefinery. Ind. Crops Prod.. 93, 26-38.
- 552 Gardner, DJ, Oporto, GS, Mills, R, Azizi Samir, MAS, 2008. Adhesion and surface issues in
553 cellulose and nanocellulose. Journal of Adhesion Science and Technology. 22, 545-567.
- 554 Gaudin, S, Lourdin, D, Forssel, PM, Colonna, P, 2000. Antiplasticisation and oxygen
555 permeability of starch-sorbitol films. Carbohydrate Polymers, 43, 33-37.
- 556 Gaudin, S, Lourdin, D, Le Botlan, D, Ilari, JL, Collona, P, 1999. Plasticisation and mobility in
557 starchsorbitol films. Journal of Cereal Science, London. 29, 273-284.
- 558 Gontard, N, Duchez, C, Cuq, JL, Guilbert, S, 1994. Edible composite films of wheat and
559 lipids: water vapor permeability and other physical properties. International Journal of Food
560 Science and Technology. 29, 39-50.
- 561 Guimarães, IC, Reis, KC, Menezes, EGT, Rodrigues, AC, Silva, TF, Oliveira, IRN, Vilas
562 Boas, EVB, 2016. Cellulose microfibrillated suspension of carrots obtained by mechanical
563 defibrillation and their application in edible starch films. Ind.Crops Prod. 89, 285-294.

- 564 Guimarães, M, Botaro, VR, Novack, KM, Teixeira, FG, Tonoli, GHD, 2015. Starch/PVA-
565 based nanocomposites reinforced with bamboo nanofibrils. *Ind.Crops Prod.* 70, 72–83.
- 566 Hosseini, SF, Rezaei, M, Zandi, M, Ghavi, FF, 2013. Preparation and functional properties of
567 fish gelatin-chitosan blend edible films. *Food Chemistry.* 136, 1490 -1495.
- 568 Kallel, F, Bettaieb, F, Khiari, R, García, A, Bras, J, Chaabouni, SE, 2016. Isolation and
569 structural characterization of cellulose nanocrystals extracted from garlic straw residues. *Ind.*
570 *Crops Prod.* 87, 287–296.
- 571 Kaushik, A, Singh, M, Verma, G, 2010. Green nanocomposites based on thermoplastic starch
572 and steam exploded cellulose nanofibrils from wheat straw. *Carbohydr. Polym.* 82, 337–345.
- 573 Lai, HM, Padua, GW, 1998. Water vapor barrier properties of zein films plasticized with oleic
574 acid. *Cereal Chem.* 75, 194–199.
- 575 Lavoine, N, Desloges, I, Dufresne, A, Bras, J, 2012. Microfibrillated Cellulose – Its Barrier
576 Properties and Applications in Cellulosic Materials: A Review. *Carbohydrate Polymers.* 90,
577 735–764.
- 578 Liu, Z, Han, JH, 2005. Film-forming characteristics of starch. *Journal of Food Science,*
579 *Chicago.* 70, 31-36.
- 580 Luchese, CL, Garrido, T, Spada, JC, Tessaro, IC, 2018. Development and characterization of
581 cassava starch films incorporated with blueberry pomace. *International Journal of Biological*
582 *Macromolecules.* 106, 834–839.
- 583 Machado, CEV, Costa, ACA, Cardoso, RC, Caetano, FP, Lopes, JA, Cury, AL, Rodrigues,
584 LM, Cabral, RF, 2017. Estudo das propriedades mecânicas e térmicas do Poliestireno de Alto
585 Impacto. *Cadernos UniFOA, Volta Redonda.* 35, 15-24.
- 586 Makaremi, M, Pooria, P, Cavallaro, G, Lazzara, G, Aw, YK, Lee, SM, Milioto, S, 2017.
587 Effect of morphology and size of halloysite nanotubes on functional pectin
588 bionanocomposites for food packaging applications. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 9, 17476-
589 17488.

- 590 Mali, S, Grossmann, MVE, García, MA, Martino, MN, Zaritzky, NE, 2004. Barrier,
591 mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. *Carbohydrate Polymers*,
592 Worcester. 56, 129–135.
- 593 Mathew, A, Thielemans, W, Dufresne, A, 2008. Mechanical properties of nanocomposites
594 from sorbitol plasticized starch and tunicin whiskers. *Journal of Applied Polymer*
595 *Science*.109, 4065-4074.
- 596 Matta, MD, Sarmiento, SBS, Claire, IGL, Sarantópoulos, SSZ, 2011. Propriedades de barreira
597 e solubilidade de filmes de amido de ervilha associado com goma xantana e glicerol.
598 *Polímeros*. 21, 67-72.
- 599 Ndou, SP, Tun, HM, Kiarie, E, Walsh, MC, Khafipour, E, Nyachoti, CM, 2017. Dietary
600 supplementation with flaxseed meal and oat hulls modulates intestinal histomorphometric
601 characteristics , digesta- and mucosa-associated microbiota in pigs. *Scientific Reports*. 1, 1–
602 15.
- 603 Novo, LP, Bras, J, García, A, Belgacem, N, Curvelo, AAS, 2015. Subcritical water: a method
604 for green production of cellulose nanocrystals. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 3, 2839–2846.
- 605 Oliveira, JP, Bruni, GP, Lima, KO, Halal, SLME, Rosa, GS, Dias, ARG, Zavarese, ER, 2017.
606 Cellulose fibers extracted from rice and oat husks and their application in hydrogel. *Food*
607 *Chemistry*. 221, 153-160.
- 608 Parra, DF, Tadini, CC, Ponce, P., Lugão AB, 2004. Mechanical properties and water vapor
609 transmission in some blends of cassava starch edible films. *Carbohydrate Polymers*. 58, 475-
610 481.
- 611 Reddy, JP, Rhim, JW, 2014. Characterization of bionanocomposite films prepared with agar
612 and paper-mulberry pulp nanocellulose. *Carbohydrate Polymers*, Barking, 110, 480-488.
- 613 Rhim, JW, Park, HM, Ha, CS, 2013. Bio-nanocomposites for food packaging applications.
614 *Progress in Polymer Science*. 38, 1629– 1652.
- 615 RStudio Team (2015). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA
616 URL <http://www.rstudio.com/>.

- 617 Sarantópoulos, CGL, Oliveira, LM, Padula, M, Coltro, L, Alves, RMV, Garcia, EEC, 2002.
618 Embalagens Plásticas Flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades, CETEA/
619 ITAL, Campinas. 267p.
- 620 Saurabh, CK, Gupta, S, Bahadur, J, Mazumder, S, Variyar, PS, Sharma, A, 2013. Radiation
621 dose dependent change in physiochemical, mechanical and barrier properties of guar gum
622 based films. *Carbohydr Polym.* 98, 1610–1617.
- 623 Silva, JBA, Pereira, FB, Druzian, JI, 2012. Cassava Starch-Based Films Plasticized with
624 Sucrose and Inverted Sugar and Reinforced with Cellulose Nanocrystals. *Journal of Food
625 Science.* 77, N14-N19.
- 626 Silva, WA, Pereira, J, Carvalho, CWP, Ferrua, FQ, 2007. Determinação da cor, imagem
627 superficial topográfica e ângulo de contato de biofilmes de diferentes fontes de amido.
628 *Ciência e Agrotecnologia, Lavras.* 31, 154-163.
- 629 Sousa, GM, Yamashita, F, Soares Júnior, MS, 2013. Active biodegradable films produced
630 with blends of rice flour and poly(butylene adipate co-terephthalate): Effect of potassium
631 sorbate on film characteristics. *Materials Science and Engineering.* 33, 3153-3159.
- 632 Sreekala, MS, Goda, K, Devi, PV, 2008. Sorption characteristics of water, oil and diesel in
633 cellulose nanofiber reinforced corn starch resin/ramie fabric composites. *Compos. Interfaces.*
634 15, 281–299.
- 635 Stalder, AF, Kulik, G, Sage, D, Barbieri, L, Hoffmann, P, 2006. A snake-based approach to
636 accurate determination of both contact points and contact angles. *Colloids and surfaces A:
637 physicochemical and engineering aspects.* 286, 92-103.
- 638 Svagan, AJ, Hedenqvist, MS, Berglund, L, 2009. Reduced water vapour sorption in cellulose
639 nanocomposites with starch matrix. *Composites Science and Technology.* 69, 500–506.
- 640 Tetens, VO, 1930. Uber einige meteorologische. Begriffe. *Z- Geophysik* 6, 297–309.
- 641 Tharantharn, RN, 2003. Biodegradable films and composite casting: past, present and future,
642 *Trends in Food Sc. and Technology.* 13, 71-78.
- 643 Turhan, KN, Shahbaz, F, 2004. Water vapor permeability, tensile properties and solubility of
644 methylcellulose-based edible films, *J. Food Eng.* 61, 459-466.

645 Uusitalo, V, Leino, M, 2019. Neutralizing global warming impacts of crop production using
 646 biochar from side flows and buffer zones : A case study of oat production in the boreal
 647 climate zone. *Journal of Cleaner Production*. 227, 2019.

648 Zhou, YM, Fu, SY, Zheng, LM, Zhan, HY, 2012. Effect of nanocellulose isolation techniques
 649 on the formation of reinforced poly (vinyl alcohol) nanocomposite films *Express Polym. Lett.*
 650 6, 794-804.

651

652 **List of figures**

653 **Fig.1.** Flowchart for obtaining oat straw nanofibrils. (a) oat straw flour; (b) oat straw after
 654 treatment with NaOH; (c) suspension of oat straw; (d) microfibrillator; (e) nanofibril gel when
 655 passing through the microfibrillator; (f) oat straw nanofibril gel obtained after five passes in a
 656 microfibrillator.

657 **Fig.2.** Water vapor permeability analysis of oat straw nanofibrils added bionanocomposites.
 658 (a) preparation of vials and samples; (b) sample packaging.

659 **Fig.3.** Micrographs obtained in SEM for oat straw in its natural state (a) and after treatment
 660 with NaOH (b); and in TEM for oat straw after one (c), three (d) and five (e) passes through
 661 the defibrillator. (a) 139x magnification; (b) 181x magnification; (c) 7000x magnification; (d)
 662 7000x magnification; (e) 7000x magnification.

663 **Fig.4.** Graphs of oat straw diameter distribution in different treatments. (a) fresh oat straw; (b)
 664 oat straw after treatment with NaOH; (c) oat straw nanofibril after a one defibrillator passage;
 665 (d) oat straw nanofibril after three defibrillator passages; (e) oat straw nanofibril after five
 666 defibrillator passages.

667 **Fig.5.** Bionanocomposites obtained by the casting method. (a) control film; (b) film with 10%
 668 addition of oat straw nanofibrils; (c) film with 20% addition of oat straw nanofibrils; (d) film
 669 with 30% addition of oat straw nanofibrils; (e) film with 50% addition of oat straw
 670 nanofibrils.

671 **Fig.6.** Average and standard deviation values of: (a) tensile strength; (b) elongation at break;
 672 (c) Young's modulus and; (d) puncture of bionanocomposites based on cassava starch with
 673 different concentrations of nanofibrils of oat straw. NFC0%: control film (addition of 10%

674 nanofibrils of oat straw); NFC10%: film with the addition of 10% nanofibrils of oat straw;
 675 NFC20%: film with addition of 20% nanofibrils of oat straw; NFC30%: film with the addition
 676 of 30% nanofibrils of oat straw; NFC50%: film with the addition of 50% nanofibrils of oat
 677 straw. Lower case letters in the bars (a, b, c and d) represent statistical comparisons using
 678 Tukey's test, while different letters indicate significant ($p \leq 0.05$) differences between the
 679 films.

680 **Fig.7.** Graph of stress vs strain curve of bionanocomposites based on cassava starch with
 681 different concentrations of nanofibrils of oat straw. NFC0%: control film (addition of 10%
 682 nanofibrils of oat straw); NFC10%: film with the addition of 10% nanofibrils of oat straw;
 683 NFC20%: film with addition of 20% nanofibrils of oat straw; NFC30%: film with the addition
 684 of 30% nanofibrils of oat straw; NFC50%: film with the addition of 50% nanofibrils of oat
 685 straw.

686 **Fig.8.** Water contact angle of bionanocomposites based on cassava starch with different
 687 concentrations of nanofibrils of oat straw evaluation over time. NFC0%: control film
 688 (addition of 10% nanofibrils of oat straw); NFC10%: film with the addition of 10%
 689 nanofibrils of oat straw; NFC20%: film with addition of 20% nanofibrils of oat straw;
 690 NFC30%: film with the addition of 30% nanofibrils of oat straw; NFC50%: film with the
 691 addition of 50% nanofibrils of oat straw.

692 **Fig.9.** Micrographs obtained in SEM for bionanocomposites with different percentages of oat
 693 straw nanofibrils added. (a) control film - surface (126x magnification); (b) control film -
 694 cross section (1.16x magnification); (c) film with the addition of 10% oat straw nanofibrils -
 695 surface (91x magnification); (d) film with the addition of 10% oat straw nanofibrils - cross
 696 section (762x magnification); (e) film with the addition of 20% oat straw nanofibrils - surface
 697 (185x magnification); (f) film with the addition of 20% oat straw nanofibrils - cross section
 698 (1.61x magnification); (g) film with the addition of 30% oat straw nanofibres - surface (178x
 699 magnification); (h) film with the addition of 30% oat straw nanofibres - cross section (1.78x
 700 magnification); (i) film with addition of 50% oat straw nanofibres - surface (263x
 701 magnification); (j) film with addition of 50% oat straw nanofibres - cross section (1.18kX
 702 magnification).

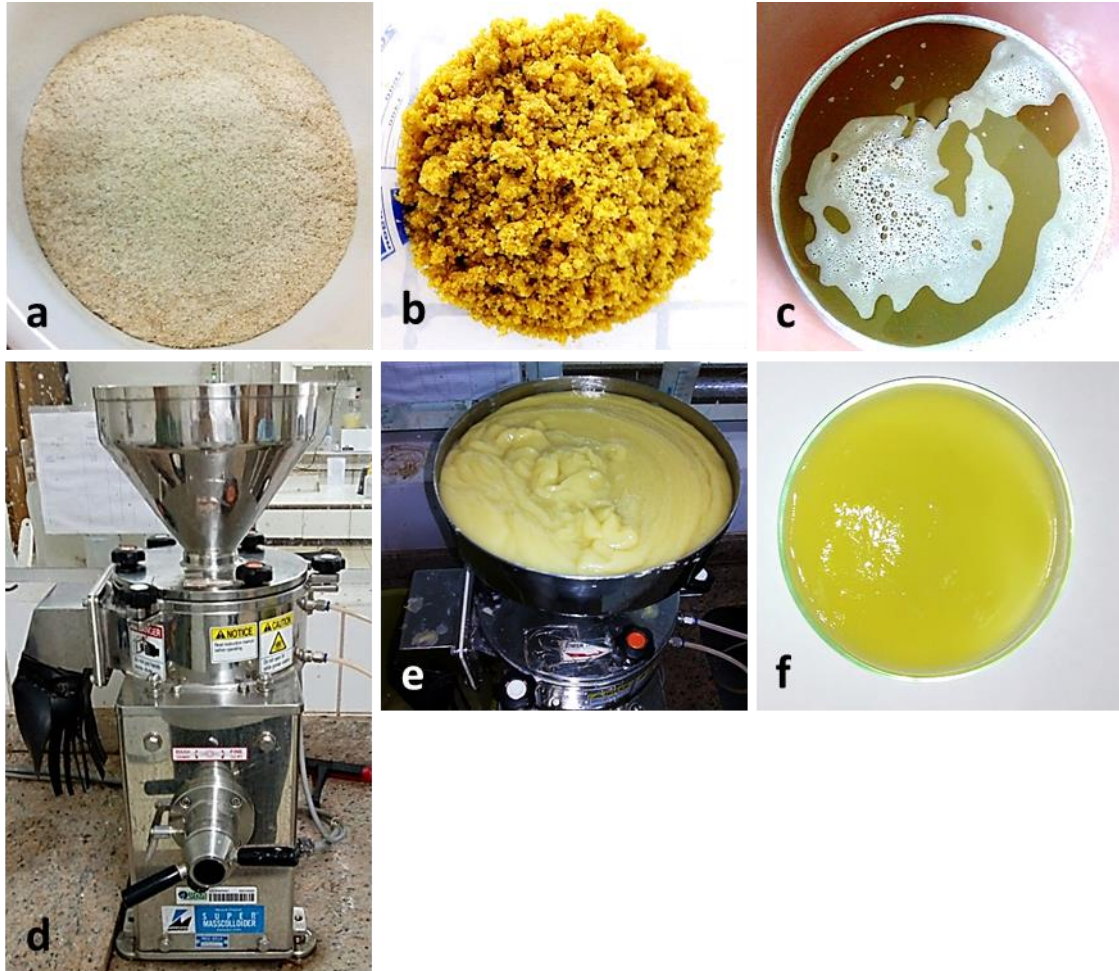
703 **Fig.10.** Graph of the principal components analysis for the parameters evaluated in
 704 bionanocomposites with different percentages of addition of oat straw nanofibrils. NFC0%:
 705 control film (addition of 10% nanofibrils of oat straw); NFC10%: film with the addition of

706 10% nanofibrils of oat straw; NFC20%: film with addition of 20% nanofibrils of oat straw;
707 NFC30%: film with the addition of 30% nanofibrils of oat straw; NFC50%: film with the
708 addition of 50% nanofibrils of oat straw.

709

710 **Figures**

711 **Fig.1.**



712

713

714

715

716

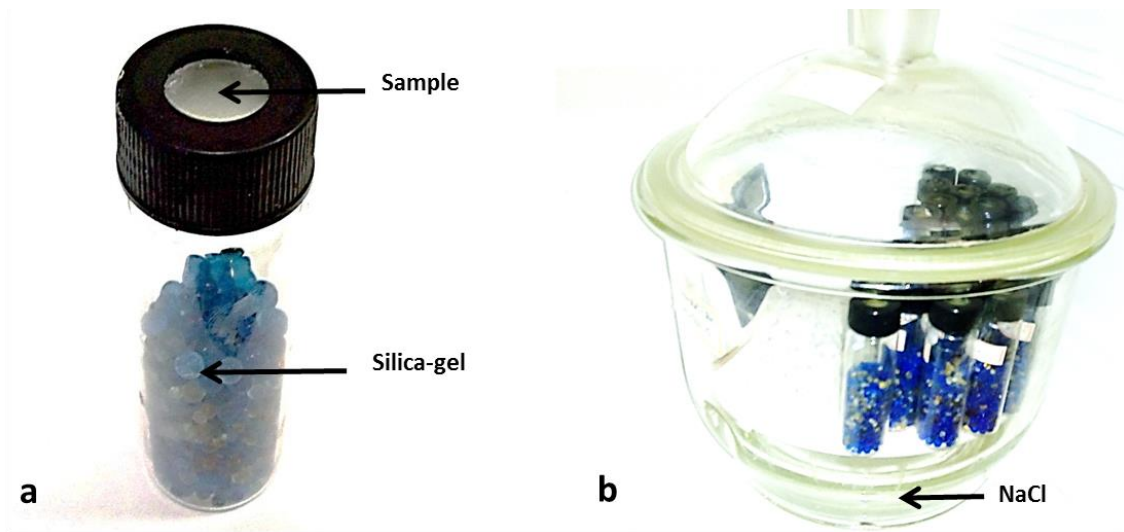
717

718

719

720

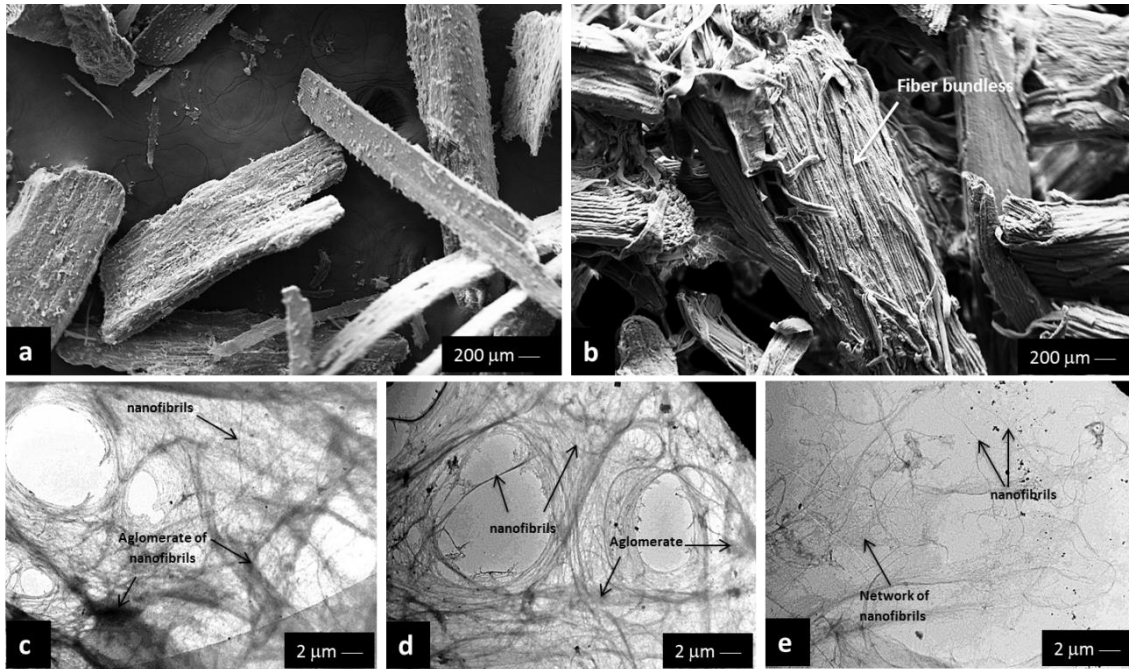
721 Fig.2



729

730 Fig.3

731



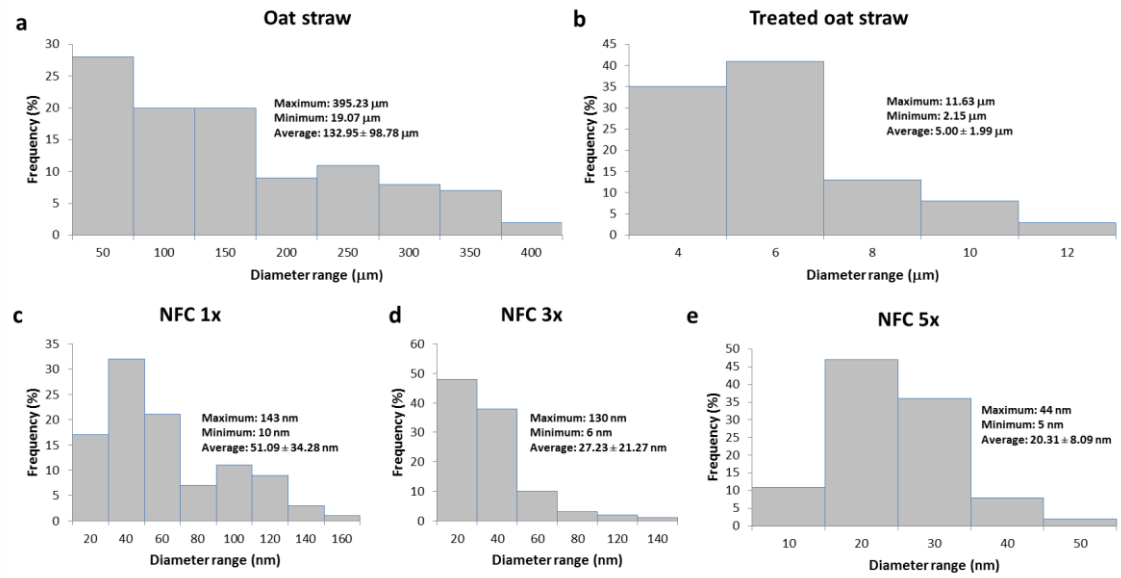
732

733

734

735

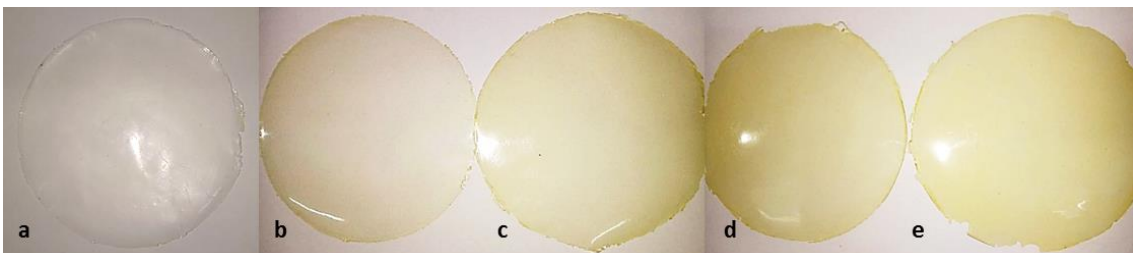
736 **Fig.4**



737

738

739 **Fig.5**



740

741

742

743

744

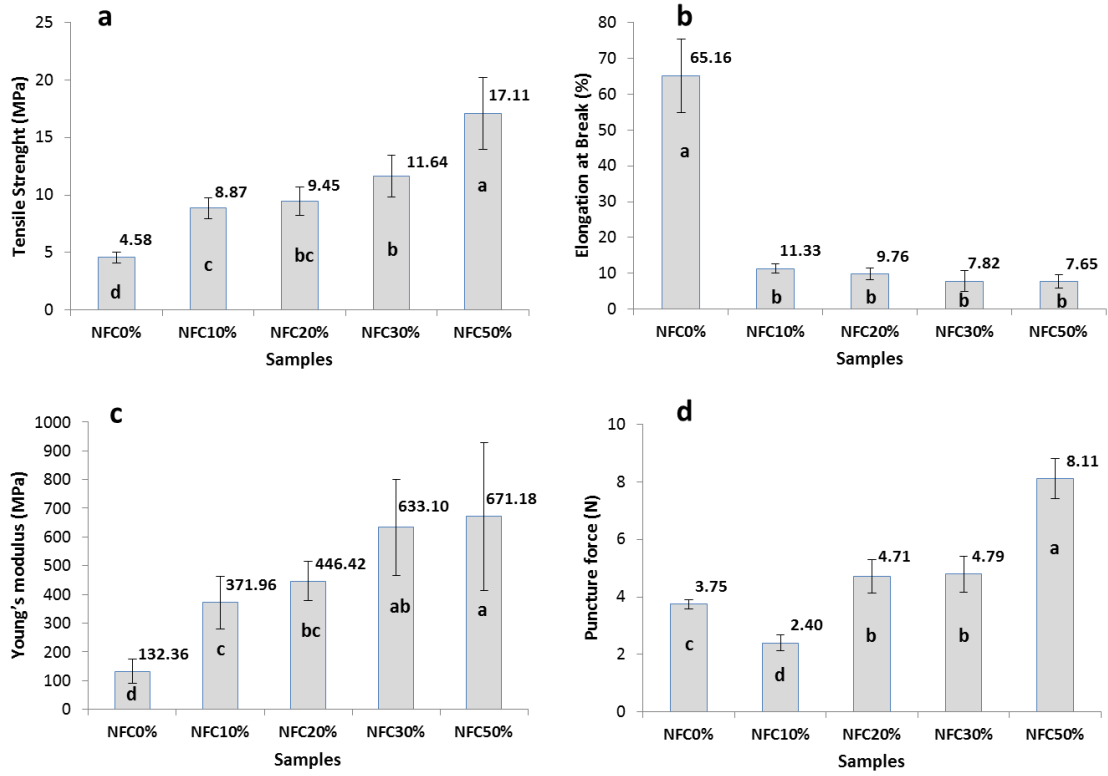
745

746

747

748

749 Fig.6

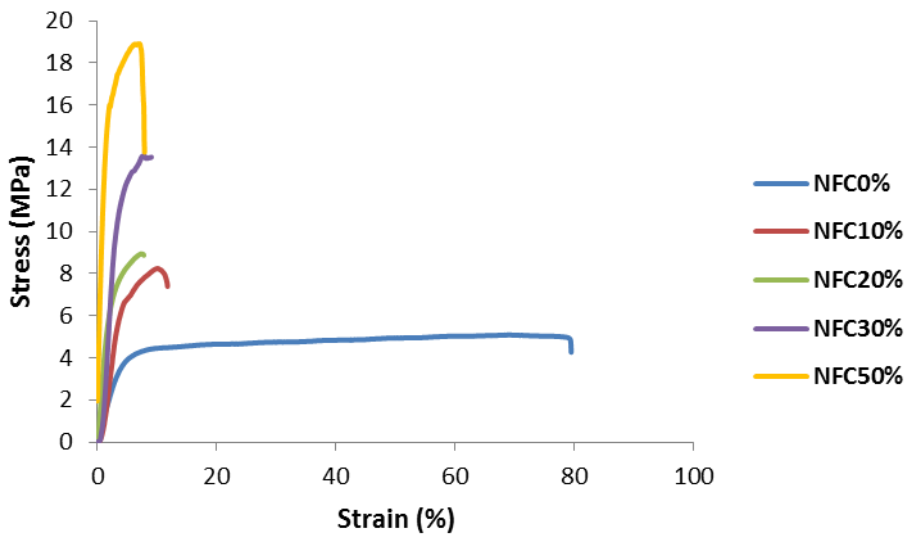


750

751

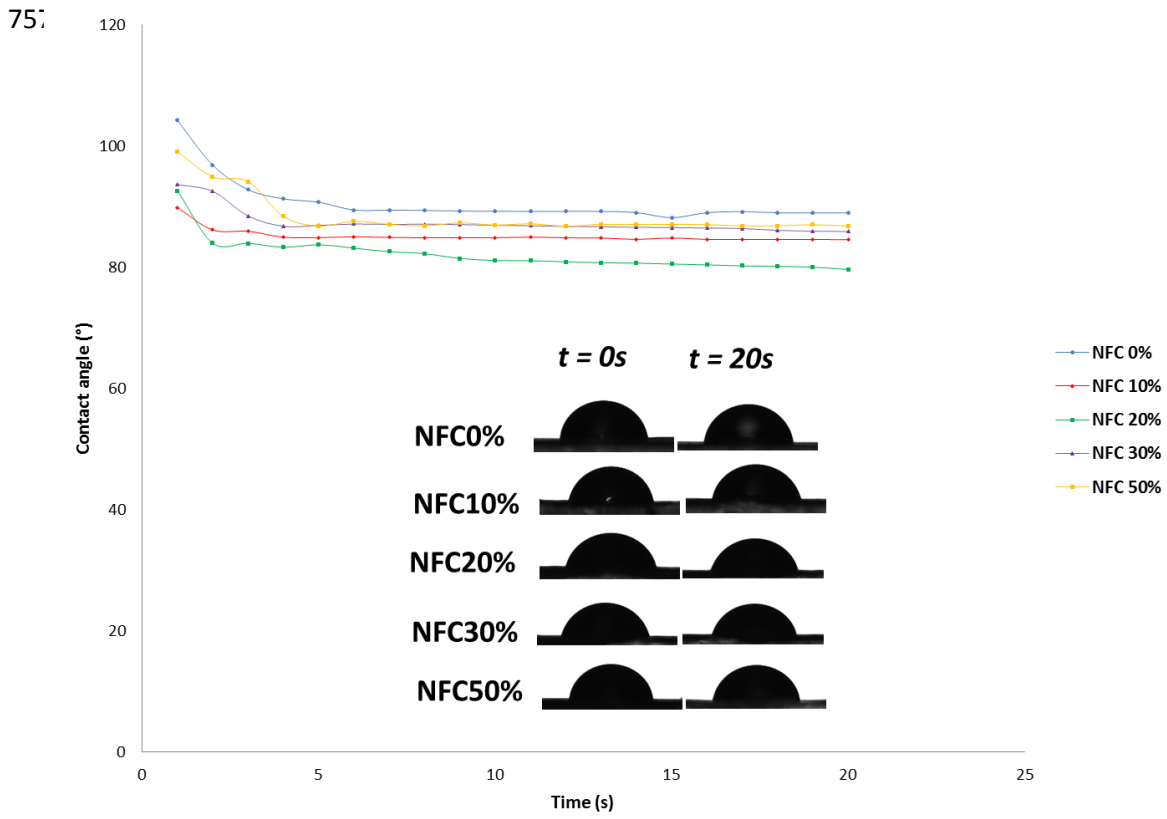
752

753 Fig.7

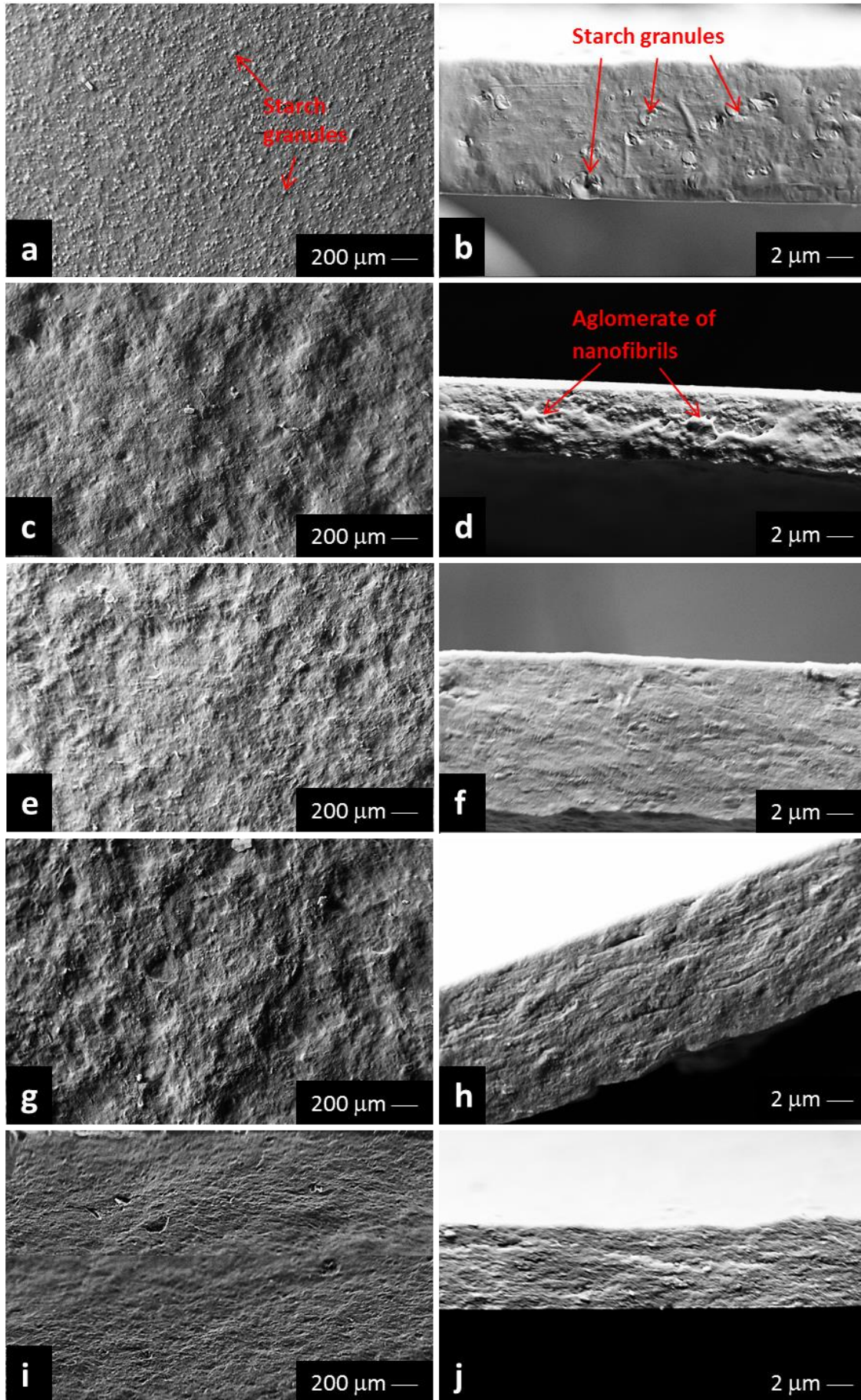


754

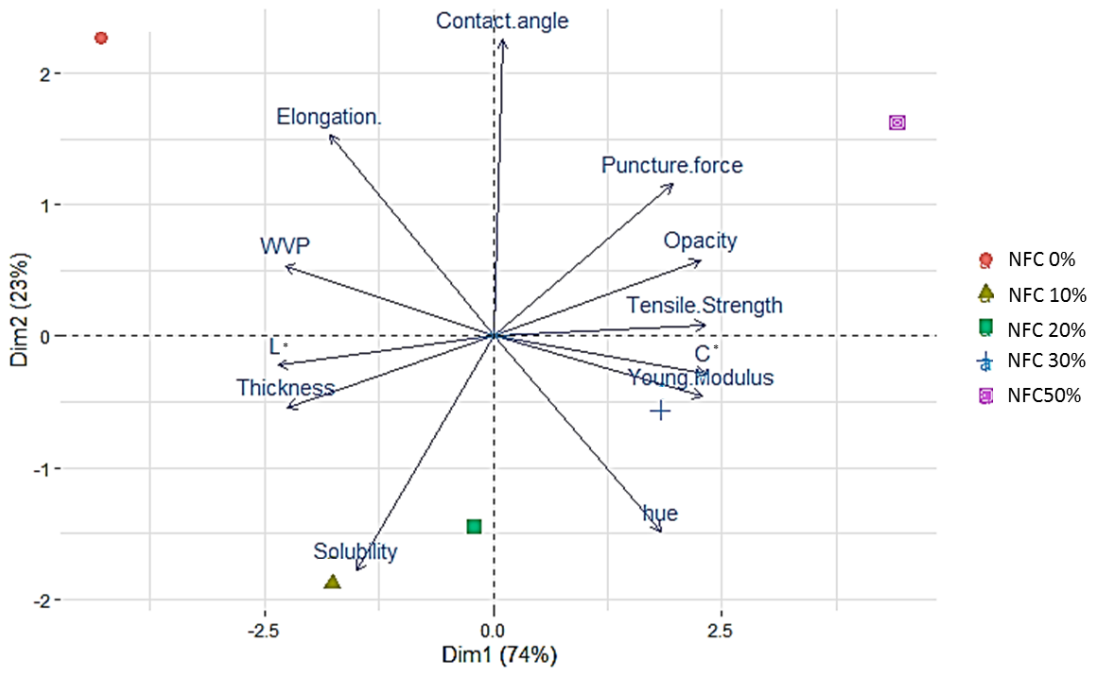
755

756 **Fig.8**

758 Fig.9



759 Fig.10



760

761 **Table 1**

762 Average and standard deviations values for thickness, opacity and staining of
 763 bionanocomposites based on cassava starch with different concentrations of nanofibrils of oat
 764 straw

Material	Thickness (mm)	Opacity (%) μm^{-1}	L*	C*	hue (°)
NFC0%	0.104±0.016a	0.370±0.023d	95.61±0.838a	4.00±0.340e	87.48±1.164c
NFC10%	0.102±0.006ab	0.385±0.009d	95.07±0.183b	8.39±0.424d	96.37±0.753b
NFC20%	0.0965±0.009b	0.413±0.023c	94.37±0.441c	11.59±0.949c	97.39±0.369 ^a
NFC30%	0.0785±0.007c	0.508±0.024b	93.87±0.228d	13.39±0.468b	97.51±0.248 ^a
NFC50%	0.0705±0.006c	0.570±0.021a	92.81±0.422e	16.50±0.999a	97.54±0.286 ^a

765 Averages followed by the same letters do not differ from each other by Tukey's Test at 5% of
 766 significance. NFC0%: control film (addition of 0% nanofibrils of oat straw); NFC10%: film with the
 767 addition of 10% nanofibrils of oat straw; NFC20%: film with addition of 20% nanofibrils of oat straw;
 768 NFC30%: film with the addition of 30% oat straw nanofibrils; NFC50%: film with the addition of 50%
 769 of oat straw nanofibrils.

770

771 **Table 2**

772 Average and standard deviations values for water vapour permeability (WVP), solubility and
 773 contact angle of bionanocomposites based on cassava starch with different concentrations of
 774 nanofibrils of oat straw

Material	WVP x 10⁻⁶ (g mm/ KPa⁻¹ dia⁻¹ m²)	Solubility (%)	Contact angle (°)
NFC0%	2.53±0.158a	32.02±1.168b	90.05±2.28a
NFC10%	1.86±0.226b	41.97±0.666a	84.53±1.00bc
NFC20%	1.83±0.048b	35.33±2.553b	82.69±0.525c
NFC30%	1.52±0.06c	32.09±2.771b	85.34±2.50abc
NFC50%	1.24±0.075d	23.19±1.258c	89.88±2.852ab

775 Averages followed by the same letters do not differ from each other by Tukey's Test at 5% of
776 significance. NFC0%: control film (addition of 10% nanofibrils of oat straw); NFC10%: film with the
777 addition of 10% nanofibrils of oat straw; NFC20%: film with addition of 20% nanofibrils of oat straw;
778 NFC30%: film with the addition of 30% nanofibrils of oat straw; NFC50%: film with the addition of
779 50% nanofibrils of oat straw.

780

1 **ARTIGO 2: Addition of wheat straw nanofibrils to improve the mechanical and barrier**
2 **properties of cassava starch–based bionanocomposites**

3

4

*Artigo publicado na revista *Industrial Crops and Products*

5

Doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113816>

6

7 Rafael Carvalho do Lago^a, Ana Lázara Matos de Oliveira^a, Allan de Amorim dos Santos^b,
8 Elídio Zaidine Maurício Zitha^a, Elisângela Elena Nunes Carvalho^a, Gustavo Henrique Denzin
9 Tonoli^b, Eduardo Valério de Barros Vilas Boas^{a,*}

10 ^aDepartamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Cx P.3037, CEP
11 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brazil.

12 ^bDepartamento de Ciências Florestais, Universidade Federal de Lavras, Cx P. 3037, Lavras,
13 MG CEP 37200-000, Brazil.

14 *Corresponding author. Tel: +55 35 38291655; E-mail address: evbvboas@ufla.br

15 **Abstract**

16 Cellulose nanofibrils (CNFs) were obtained from wheat straw, and different concentrations
17 (0%, 10%, 20%, 30% and 50%) of the CNFs were incorporated into cassava starch-based
18 films. Thirty passages through a microfibrillator allowed us to obtain well-dispersed CNFs
19 with reduced thickness (34.26 nm). The addition of CNFs promoted an average increase in
20 tensile strength values on the order of 126.69%. The treatments with higher CNF addition
21 percentages (30% and 50%) presented higher Young's modulus values (566.68 and 585.72
22 MPa, respectively), which indicates an increase in stiffness. The elongation and puncture

23 force decreased with the addition of CNFs, presenting average reductions of 83.72% and
24 56.66%, respectively. A significant decrease in water vapour permeability was observed for
25 the treatments with higher percentages of CNFs added, with a drop from 2.15×10^{-6} in the
26 control film to 1.39×10^{-6} g mm/KPa⁻¹ day⁻¹ m² in the film with the maximum addition
27 percentage. The contact angle values increased from 43.45° in the control film to 68.66° in the
28 sample with the maximum CNF concentration. The lower hydrophilicity of the treatments
29 with 30% and 50% CNF additions is evidenced by the lower values presented for the Cobb
30 test (99.84 and 99.31 g m²), polar surface free energy (0.41 and 0.19 mN m⁻¹) and polarity
31 (0.01 and 0.007). In these treatments, there were stronger interactions between the CNF and
32 starch molecules. Thus, the addition of 30 to 50% wheat straw CNFs is recommended to
33 strengthen the structure and improve the barrier properties of cassava starch-based films.

34 **Keywords:** Cellulose nanofibrils; agroindustrial wastes; water vapour permeability; contact
35 angle; wettability, polarity.

36 1. Introduction

37 Research on biodegradable-based polymers has been gaining attention in recent
38 decades, reflecting the attempt to reduce the impacts to the environment from the use of
39 petroleum-based materials (Nascimento et al., 2018; Nechyporchuk et al., 2016). Among the
40 potential biopolymer materials, special interest has been paid to the so-called low-cost and
41 non-scarce materials; these materials are found in abundance in nature and can be easily
42 exploited (Owi et al., 2019). As an example, native starches, such as corn starch (Qin et al.,
43 2016; Wang et al., 2017; Xu et al., 2015) and cassava starch (Chuang et al., 2017; López-
44 Córdoba et al., 2017; Mei et al., 2015), have proven effective as base materials for obtaining
45 biopolymers.

46 Although they exhibit a good barrier to atmospheric gases and are biodegradable
47 materials, native starches tend to have poor mechanical properties and a low water vapour
48 barrier due to their high hydrophilicity (Dole et al., 2004; Seligra et al., 2016). The
49 incorporation of cellulosic nanofibrils (CNFs) has emerged as an alternative to circumvent
50 this problem. These materials offer a high specific surface area, excellent mechanical strength,
51 thermal stability, and desirable optical properties (Rajinipriya et al., 2018; J. Xu et al., 2018;
52 K. Xu et al., 2018), which contribute to improving the mechanical and barrier properties of
53 starch-based biopolymers. In addition, they are biodegradable materials and are considered
54 the second generation of renewable resources (Fonseca et al., 2019; Xu et al., 2020). Thus, the
55 use of CNFs in the preparation of biodegradable-based materials is a practice that fully meets
56 the requirements of the sustainability concept, especially when they are obtained from
57 agroindustrial waste, which is responsible for generating environmental impacts worldwide.

58 Wheat (*Triticum* sp.) is the second most consumed cereal in the world, behind maize.
59 A recent report by the United States Department of Agriculture (USDA) (2020) highlights an
60 increase in the worldwide yearly wheat production, which reached 773.1 million tons for the
61 2020/21 crop year (United States Department of Agriculture (USDA), 2020). According to
62 García et al. (2016) and Miao et al. (2020), most of the waste from the processing of cereals,
63 such as rice and wheat, comes in the form of straw and husk, and this type of material
64 generally has little intrinsic value. Given the high annual production, the amount of waste
65 from the wheat industry has a large environmental impact. In China, the second largest wheat
66 producer in the world, a tremendous amount of wheat straw is generated annually
67 (approximately 80 million tons), only a small percentage of which is used for the production
68 of raw materials and energy, while most of it is burned in fields and forests or buried in the
69 ground, constituting a source of pollution and a recurrent fire risk (Bian et al., 2019).

70 Menon and Rao (2012) and Vassilev et al. (2012) stated that wheat straw is made of
71 approximately 44.5% cellulose; thus, it has the potential to be a source of cellulosic
72 nanofibrils. In fact, a more recent study indicated that wheat straw is the most suitable cereal
73 straw for obtaining lignocellulose nanofibrils (Espinosa et al., 2017).

74 Obtaining cellulosic nanofibrils from wheat straw has been successfully reported by
75 several authors (Bian et al., 2019; Liu et al., 2017; Montaña-Leyva et al., 2011; Sánchez et al.,
76 2016). Regarding applications, to name a few examples, Alemdar and Sain (2008), Ali et al.
77 (2017) and Kaushik et al. (2010) studied the effect of incorporating wheat straw nanofibrils in
78 thermoplastic potato and corn starch-based films, respectively, and found improvements in the
79 mechanical properties; Oun and Rhim (2016) applied wheat straw-based cellulose
80 nanocrystals as reinforcement in carboxymethylcellulose films and found an improvement in
81 the mechanical and barrier properties; Yang et al. (2018), who added wheat straw nanofibers
82 to polylactic acid biocomposites, found the same results; and Petroudy et al. (2018) developed
83 eco-friendly carboxymethylcellulose-based superabsorbent polymers reinforced with wheat
84 straw cellulose, which exhibited biodegradable and nontoxic properties. These data reinforce
85 the potential of wheat straw as an emerging bionanomaterial.

86 Although many studies have already been conducted on the development of polymers
87 with cellulosic nanofibrils incorporated, the increasing search for ways to improve the
88 properties of films, for different combinations of raw materials and for different
89 concentrations is important to help expand the possibilities of obtaining biodegradable
90 materials with properties similar or superior to those of traditional polymers. This study
91 investigates the combination of two non-scarce and low-cost materials little explored in
92 association - cassava starch and wheat straw nanofibrils -- offering an investigation of the
93 mechanical and barrier properties of cassava starch-based films with the addition of a large

94 percentage range of wheat straw nanofibrils to define the concentration range that provides
95 the best results, thus presenting a new low cost and eco-friendly alternative material.

96 **2. Materials and methods**

97 **2.1. Materials**

98 The wheat straws were provided by EPAMIG/Lavras Experimental Field, Minas
99 Gerais, Brazil. Cassava starch (19.54% amylose and 80.46% amylopectin) was purchased
100 from a local market in Lavras, Brazil. A 70% sorbitol solution was purchased from
101 Dinâmica®, Piracicaba, SP, Brazil. The reference materials, low-density polyethylene
102 (LDPE), polyamide (PA), and polyvinyl chloride (PVC) were purchased from standard
103 suppliers.

104 **2.2 Preparation of nanofibrils**

105 The process of obtaining nanofibrils from wheat straw was conducted according to Lago
106 et al. (2020). First, the wheat straws were sorted to remove foreign materials and any
107 impurities, such as stones, leaves, twigs and wheat grains, remaining from the harvest. This
108 removal was done by hand selection and by obtaining the density difference after immersing
109 the material in water. Then, the straws were washed with drinking water, dried in an oven
110 with air circulation at 60°C for 24 h, crushed in a knife mill and passed through 40 mesh
111 sieves to obtain wheat straw flour. The alkaline treatment was then conducted by preparing an
112 aqueous solution containing 5% (w/v) wheat straw flour and 5% (w/v) sodium hydroxide
113 (NaOH). The solution was stirred (400 rpm) for 4 h in a water bath (80°C) and then washed
114 with distilled water under a 270 mesh sieve until a neutral pH was achieved. The treated straw
115 was dried in an oven with air circulation at 65°C until weight constancy was obtained. Then,
116 an aqueous suspension containing 2% (w/v) treated wheat straw was prepared. The
117 suspension was kept at rest for seven days and stirred daily (400 rpm) for 10 min. Finally, the

118 suspension was subjected to subsequent passages in a microfibrillator - Super
119 Masscolloider®, model MKCA6 - 2J, Kawaguchi, Japan to obtain the nanofibril gel. A
120 scheme of the process is shown in Fig. (1).

121 < Fig. (1) >

122 **2.3 Preparation of films**

123 Cassava starch-based films with different percentages of wheat straw nanofibrils
124 added were obtained by the casting method based on the formulation proposed by Guimarães
125 et al. (2015). A solution of 3% (w/v) cassava starch in distilled water, previously hydrated for
126 24 h, was subjected to gelatinization at 80°C for 20 min under stirring (750 rpm). Sorbitol was
127 added to the solution before gelatinization as plasticizing. The concentration of sorbitol was
128 30% in relation to the mass of the starch. Different concentrations (w/w) of wheat straw
129 nanofibril gel (10, 20, 30 and 50%) were added to the gelatinized solution. The nanofibril gel
130 was added in relation to the total mass of the filmogenic solution. The dry weight of the CNFs
131 in the gel was $2.21 \pm 0.11\%$. A control film was also prepared without the addition of the
132 nanofibril gel. Once the nanofibril gel was added, the solutions were subjected to agitation at
133 750 rpm for 15 min and then sonication for 1 h at 750 W and 40% amplitude. Then,
134 approximately 40 g of the filmogenic solution was poured onto acrylic plates and dried in an
135 acclimatized environment at $20 \pm 1^\circ\text{C}$ and $60 \pm 1\%$ relative humidity for ten days. After this
136 period, the films were removed from the plates and stored in plastic bags, separated by paper,
137 until the analyses were performed.

138 **2.4 Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)**

139 The structure and molecular interactions of the nanofibril gel and the prepared films
140 were evaluated by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) analysis according to
141 Carpiné et al. (2016). The analysis was performed using a spectrophotometer (FTIR

142 Spectrometer Varian 600-IR Series) coupled to GladiATR (Pike Technologies). The samples
143 were placed in the support and pressed by a measuring sensor. Each spectrum was obtained
144 with 56 scans in the mid-infrared range of 4000 to 400 cm^{-1} and a spectral resolution of 4 cm^{-1} .
145

146 **2.5 Microstructural analyses**

147 **2.5.1 Transmission electron microscopy (TEM)**

148 The morphology of wheat straw nanofibrils obtained after 10, 20 and 30 passes
149 through the microfibrillator was evaluated under an EM 109 transmission electron microscope
150 (Zeiss®) with a voltage of approximately 100 kV. The suspensions for analysis were prepared
151 according to Lago et al. (2020). The diameters of the nanofibrils in the micrographs were
152 measured with the aid of *ImageJ*® software, with 100 measurements for each treatment.

153 **2.5.2 Scanning electron microscopy (SEM)**

154 SEM analysis was performed to evaluate the morphology of wheat straw before and
155 after alkaline treatment, as well as the morphology of the prepared films. In the first case,
156 samples of wheat straw (natural and after treatment with NaOH) were fixed to the stubs using
157 double-sided adhesive tape and gold coated in an SCD 050 sputter coater. To examine the
158 films, the samples were fractured after rapid freezing in liquid nitrogen, followed by fixation
159 to the stubs and gold coating. Images were obtained from a scanning electron microscope
160 (LEO Evo 40 XVP).

161 **2.6 Nanofibrils yield**

162 The yield of nanofibrils was determined according to the method proposed by Besbes
163 et al. (2011), with modifications by Lago et al. (2020), and is expressed as a percentage. The
164 analysis was performed in five replicates.

165 2.7 Characterization of films

166 2.7.1 Colour, opacity and thickness

167 The colour of the films was evaluated using a colorimeter under a visual angle of 10°
 168 and a D65 illuminant, with determination of the parameters L^* , C^* and hue. Seven readings
 169 were performed per replicate, totalling 21 readings per treatment. The opacity was calculated
 170 as the ratio between the L^* value of the sample placed over a black pattern (L^*b) and the L^*
 171 value of the sample placed over a white pattern (L^*w) (Eq. (1)). To eliminate interferences,
 172 the opacity values of each sample were divided by the sample's thickness (T), determined
 173 with the aid of a flat-tip micrometer with a resolution of 0.001 mm and expressed in mm.

$$174 \text{ Opacity } (\% \mu\text{m}^{-1}) = \left(\frac{\frac{L^*b}{L^*w}}{T} \right) \times 100$$

175 (1)

176 2.7.2 Mechanical properties

177 The mechanical properties of the films were evaluated according to the ASTM d882-
 178 00 method (ASTM, 2002) using a TA.XT2i texture analyser (*Stable Micro Systems*, TA.XT2i,
 179 England). For the tensile test, the specimens were cut in dimensions of 25 x 100 mm and
 180 fitted to the pneumatic grippers (A/TG) of the equipment. The distance between the clamps
 181 was 50 mm, and the traction speed was 0.8 mm s⁻¹. The parameters determined were tensile
 182 strength (MPa), elongation (%) and Young's modulus (MPa). For the puncture test, the
 183 specimens were cut into the dimensions of 30 x 30 mm and adjusted to the probe support
 184 (p/S5) of 5 mm of contact area with the film of the equipment. The distance between the
 185 probe and the specimen was manually adjusted, the test speed was 0.8 mm s⁻¹, and the
 186 maximum puncture force (N) was determined. Three specimens from each replicate were
 187 used, for a total of nine tests per treatment.

188 **2.7.3 Water vapour permeability (WVP)**

189 To evaluate the WVP of the films, the gravimetric method proposed by ASTM E 96
190 (1995) (1995) was used, with modifications by Lago et al. (2020). The results are expressed in
191 g mm/KPa⁻¹ day⁻¹ m². The test was conducted in triplicate.

192 **2.7.4 Solubility in water**

193 A method proposed by Gontard et al. (1994), with modifications, was used to
194 determine the water solubility of the films. Film samples with a diameter of 2 cm that were
195 previously submitted to an oven at 55°C until constant weight was obtained were immersed in
196 vials containing 30 mL of distilled water. After 24 h of shaking (50 rpm, 25°C), the
197 solubilized material was collected and placed in an oven at 105°C until constant weight was
198 obtained. The solubility was deduced as the difference between the initial mass of the dry
199 material (*I_m*) and the weight of the nonsolubilized dry material (*E_m*), according to Eq. (2),
200 and is expressed as a percentage.

$$201 \quad Solubility(\%) = \left(\frac{(I_m - E_m)}{I_m} \right) \times 100$$

202

203

(2)

204 **2.7.5 Contact angle, wettability, free surface energy and polarity**

205 The contact angle, wettability, and surface free energy (SFE) of the films were
206 measured in a goniometer (Kruss, DSA25, Hamburg, Germany), with image acquisition and
207 measurement of the values performed by Advanced software (Kruss, Hamburg, Germany).
208 Samples of the films with the dimensions of 2.5 cm x 1.0 cm were used for the tests.

209 For the contact angle and wettability analyses, a drop of water was applied on the
210 samples, and the values of the angles on both sides of the drop formed were calculated over

211 60 s. The average of the values for each sample was calculated and taken as the contact angle
212 value. Readings were performed in triplicate in three distinct regions of each replicate.

213 To calculate the wettability, the mean contact angle at 5 s and the mean contact angle
214 at 60 s were considered according to the ASTM D 724-99 method (ASTM D724 – 99, 2003)
215 (Eq. (3)), as follows:

$$216 \text{Wettability } (^{\circ}/s) = \frac{(A - a)}{55}$$

217 (3)

218 where A is the mean value of the contact angle at 5 s; a is the mean value of the contact angle
219 at 60 s; and 55 is the time between one measurement and another (s). Similarly, images of the
220 angles were obtained at 1 s, 5 s, and 60 s.

221 For the SFE analysis, the sessile drop method described by Owens and Wendt (1969),
222 Kaelble (1970) and Rabel (1971) was used. The values of total, polar, and dispersive surface
223 energy were taken as the contact angles formed in the specimens by five different solvents,
224 i.e., water, glycerol, diiodomethane, ethylene glycol, and 1-bromonaphthalene, and are
225 expressed in mN m^{-1} . The polarity was calculated as the ratio between the polar component
226 estimates and the total surface energy of the films.

227 **2.7.6 Cobb120 test**

228 To evaluate the water absorption of the films, the Cobb120 test was performed
229 according to the T441 om-13 methodology (Tappi, 2009). Samples of the films with
230 dimensions of 13 cm^2 were placed under a 10-cm^2 ring. Then, 100 mL of deionized water was
231 added to the ring and the samples were submerged for 120 s. The “wet” samples were pressed
232 once between two absorbent papers with a 10-kg roll applied to remove the residual water.

233 The water absorption values were calculated based on the weights (measured in an analytical
234 balance) of the samples before (a) and after (A) contact with water, according to Eq. (4).

$$235 \text{Cobb index (g m}^2\text{)} = (A - a) \times 100$$

236 (4)

237 **2.8 Experimental design and statistical analysis**

238 A completely randomized design was used, with five different amounts of wheat straw
239 nanofibrils (0%, 10%, 20%, 30% and 50%) added to the prepared films. Three replicates were
240 performed for each treatment. Each replicate consisted of 100 mL of film solution, with an
241 average yield of three to five film discs. The data were submitted to analysis of variance
242 (ANOVA), principal component analysis (PCA) and hierarchical clustering. The averages and
243 standard deviations were calculated. The means were compared using the Scott-Knott test
244 ($P < 0.05$). Statistical software RStudio Team (2015) was used to analyse the data.

245 **3 Results and discussion**

246 **3.1 Characterization of wheat straw nanofibrils**

247 Fig. (2) shows the SEM images of the wheat straw fibres before and after alkaline
248 treatment, as well as the TEM images of the nanofibril gel after 10, 20, and 30 passes through
249 the defibrillator. Fig. (3) shows the frequency distribution graphs with the respective
250 diameters measured. Fig. (2b) shows that the fibrous bundles were more separated after
251 alkaline treatment with NaOH, suggesting the removal of much of the hemicellulose and
252 lignin responsible for binding the bundles together. The separation of fibrous bundles
253 facilitates the subsequent defibrillation of the cell wall, obtaining material with a good aspect
254 ratio and reduced diameter. In addition, the frequency distribution plot indicates that there was
255 a considerable reduction (98.34%) in the average fibre diameter after the alkaline treatment

256 (Fig. (3a-b)). Regarding the nanofibril gel, the consecutive passes through the defibrillator
257 contributed to the reduction of the diameters and greater dispersion of the nanofibrils, as can
258 be observed by the TEM images (Fig. (2c-e)) and the frequency distribution graphs (Fig. (3c-
259 e)). The final product (after 30 passes through the defibrillator) had a nanometric size in 100%
260 of the measurements (Fig. (3e)), in addition to having more dispersed nanofibril bundles, with
261 lower clustering (Fig. (2e)). The greater dispersion and smaller diameter give the nanofibrils
262 better mechanical and barrier properties (Zhou et al., 2012), making them suitable for film
263 reinforcement. This final product was therefore used for the preparation of films.

264 The result of the yield analysis supported the behaviour observed in the
265 microstructural and diameter distribution analysis and indicated that the nanofibril gel
266 obtained from 30 passes through the defibrillator had an average yield of $98.59 \pm 0.54\%$. That
267 is, almost 100% of the material obtained was nanofibrillated.

268 < Fig. (2) >

269 < Fig. (3) >

270 **3.2 Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)**

271 Fig. (4) shows the FTIR spectra obtained for the wheat straw nanofibril gel, as well as for
272 the films made with different concentrations of nanofibrils.

273 < Fig. (4) >

274 For the nanofibril gel, the bands observed at 3316 cm^{-1} and 2913 cm^{-1} are attributed to the
275 stretching of OH and CH groups, respectively, which are major functional groups found in
276 lignocellulosic materials (Han et al., 2013). The band observed at 1650 cm^{-1} is related to the
277 H-O-H stretching vibration of water adsorbed by cellulose molecules (Chen et al., 2017).
278 However, the peaks observed at 1419 cm^{-1} , 1029 cm^{-1} and 894 cm^{-1} are associated with

279 distinct cellulose peaks (Rosli et al., 2013; Sun et al., 2004), which predominate in the
280 structure of the nanofibril gel. Although the peak observed at 1558 cm^{-1} can be attributed to
281 the C=C stretching vibration of aromatic hydrocarbons present in lignin (Han et al., 2013;
282 Rosa et al., 2012), the absence of bands in the range of $\sim 1730\text{ cm}^{-1}$ and $\sim 1240\text{ cm}^{-1}$, which is
283 characteristic of the functional groups present in hemicellulose and lignin, such as uronic
284 esters and ester bonds of the carboxylic group of ferulic and p-coumaric acid (Bian et al.,
285 2019; Chandra et al., 2016; Han et al., 2013; Miao et al., 2020; Montañó-Leyva et al., 2011;
286 Rosa et al., 2012), indicates removal of much of the noncellulosic structures by the prior
287 alkaline treatment applied to the wheat straw samples, as can be observed in the SEM images.

288 Regarding the elaborated films, the bands observed at 3272 cm^{-1} are assigned to the OH
289 groups present in the water molecules, nanofibrils, starch and sorbitol; the peaks at 2910 cm^{-1}
290 are assigned to the C-H stretching vibrations in cellulose and starch backbone (Kaushik and
291 Singh, 2011; Lomelí-Ramírez et al., 2014); and the peaks at 1650 cm^{-1} are attributed to water
292 absorbed by the starch, cellulose and sorbitol molecules. In the fingerprint region, the bands at
293 1417 cm^{-1} are attributed to sorbitol molecules (Pourfarzad et al., 2018). An intense peak was
294 observed at 997.01 cm^{-1} and can be attributed to the crystalline region of starch (Abdulla et
295 al., 2018). However, the bands at 1149 cm^{-1} , 1077 cm^{-1} and 759 cm^{-1} were related to the
296 stretching of the C-O, C-OH and C-O-C bonds of starch (Akhavan et al., 2017; López-
297 Córdoba et al., 2017; Prachayawarakorn et al., 2013).

298 In general, no difference was observed between the spectra of the control film and those
299 with the addition of wheat straw nanofibrils. This finding indicates that the addition of
300 nanofibrils does not lead to a significant chemical modification in terms of functional groups
301 due to the structural similarity between cassava starch and the nanofibril gel. The band
302 assigned to water absorption/adsorption in pure CNF is much less intense than that presented
303 by the control film, which indicates lower hydrophilicity of the nanofibrils relative to the

304 starch molecules. Moreover, the sorbitol added to the elaborated films, due to its hygroscopic
305 nature, contributes to the higher water absorption, which explains the behaviour. Regardless, a
306 discrete decrease in the peak intensity at 1650 cm^{-1} for the treatments with a higher percentage
307 of wheat straw nanofibrils (CNF30 and CNF50) was observed and may be indicative of lower
308 water absorption compared to the control film. In fact, this hypothesis will be confirmed by
309 subsequent analyses.

310 Another point worth mentioning is the decrease in intensity of the bands assigned to the
311 OH group (3272 cm^{-1}), which is also observed in treatments with 30 and 50% wheat straw
312 nanofibrils proportions. This lower intensity may be indicative of greater and more intense
313 interactions between the starch molecules and nanofibrils. When such bonds are formed, the
314 polysaccharide chains, as well as the sorbitol molecules, lose hydroxyl groups to the medium
315 in the form of water, and as this water is evaporated in the drying process, the amount of free
316 OH groups tends to decrease, which explains the observed behaviour (Jaramillo et al., 2016).
317 This fact directly interferes with the performance of the films, which will be demonstrated in
318 the tests performed.

319 **3.3 Characterization of films**

320 **3.1 Morphology**

321 The SEM micrographs obtained for the surface and cross-section of the films with
322 different percentages of wheat straw nanofibrils added are shown in Fig. (5).

323 < Fig. (5) >

324 The control sample had a smooth and homogeneous cross-section. The surface has
325 some roughness, which is characteristic of starch biopolymers, but homogeneity was
326 observed. The addition of nanofibrils increased the surface roughness of the films, as

327 predicted. The film with the addition of 10% wheat straw nanofibrils (Fig. (5c-d)) was
328 characterized by a heterogeneous surface, and there were isolated clusters of nanofibrils in
329 certain regions (red arrows). The cross-sectional images (Fig. (5c)) also showed
330 heterogeneity. The sample with 20% nanofibrils (Fig. (5e-f)) also showed a cross-section with
331 little homogeneity and the presence of voids on the surface, although to a lesser extent than
332 the 10% group. An explanation for this finding is that the amount of nanofibrils added in
333 these treatments may not have been enough to establish strong and continuous hydrogen
334 bonds with the starch molecules, culminating in clusters. In fact, as the nanofibrils
335 concentration increased to 30% (Fig. (5 g-h)) and 50% (Fig. (5i-j)), the surface became more
336 homogeneous, as did the cross-section, and no isolated clusters were observed. In these
337 treatments, the nanofibrils established stronger bonds with the starch molecules, as observed
338 in the FTIR spectra (Fig. (4)), resulting in a more continuous and homogeneous surface fully
339 filled with nanofibrils. The higher or lower incidence of nanofibril clusters on the surface
340 exerts a strong influence on the mechanical and barrier properties of films, as observed
341 throughout this study.

342 The result obtained by the microstructural analysis could also be observed by visual
343 analysis with the naked eye (Fig. (6)). The surface of the films with 10% wheat straw
344 nanofibrils was irregular, with isolated clusters and voids present (Fig. (6b), red arrows). The
345 other samples visually presented a homogeneous surface. All the films obtained by the casting
346 method detached easily from the plates without breaking or fissuring.

347 < Fig. (6) >

348 **3.2 Thickness, opacity, and colour**

349 Table 1 shows the thickness, opacity, and colour values of the films with different
350 percentages of wheat straw nanofibrils added.

351 < Table 1 >

352 The films became thicker with the addition of up to 20% wheat straw nanofibrils. A
353 decrease in thickness was observed with 30% addition, after which there was no significant
354 difference from the thickness of the control film. The increase in film thickness obtained by
355 the casting method with the inclusion of nanofibrils has been reported by several authors
356 (Guimarães et al., 2016, 2015; Luchese et al., 2018). Lago et al. (2020) observed the opposite
357 behaviour for cassava starch films supplemented with oat straw nanofibrils, which can be due
358 to the higher mass/volume ratio of formulations containing nanofibrils. The fact that the
359 thickest films in the present study were those with the lowest percentages of wheat straw
360 nanofibrils can be attributed to the isolated clusters of nanofibrils in these formulations, which
361 were concentrated in certain regions of the surface, promoting a localized increase in
362 thickness. The fact that the formulation with 10% addition of wheat straw nanofibrils had the
363 highest standard deviation of thickness corroborates this statement, as it is indicative of
364 isolated clusters, which lead to heterogeneity of the film surface, which is what we observed
365 by the visual and microstructural analysis of films. The thickness is a parameter of paramount
366 importance that can influence the characteristics of biopolymers, such as their mechanical and
367 barrier properties (Galdeano et al., 2013).

368 The lowest opacity was observed for the films with a 10% addition of wheat straw
369 nanofibrils, with an increase in values with the increase in nanofibrils, and the treatments with
370 30% and 50% of nanofibrils showed the highest averages, not differing from the control. The
371 increase in the opacity values of films with the addition of nanofibrils has already been
372 reported by other authors (Besbes et al., 2011a; Bilbao-Sainz et al., 2011; Hafizulhaq et al.,
373 2018; Pelissari et al., 2017). This behaviour is attributed to the random distribution of the
374 nanoparticles in the matrix, as well as the formation of percolated networks of hydrogen
375 bonds between the nanofibrils, which refract light, preventing its transmission and therefore

376 exhibiting high opacity values (Bel Haaj et al., 2016; Boufi et al., 2014; Pelissari et al., 2017).
377 Based on these statements, it is suggested that the higher opacity values presented by the films
378 with 30% and 50% nanofibrils is because these treatments exhibited greater interaction with
379 the starch matrix and formed percolated networks of nanofibrils that are well distributed
380 throughout the surface, as confirmed by the FTIR spectra (Fig. (4)) and the SEM images (Fig.
381 (5)). In contrast, in films with 10% nanofibrils, isolated clusters were observed, culminating
382 in voids on the film surface, through which light can pass more easily compared to the spaces
383 filled with nanofibrils, which explains the lower opacity values. In addition, the fact that this
384 treatment showed significantly lower opacity than the control film may indicate that the starch
385 molecules formed hydrogen bonds with the nanofibril isolates in determined regions, leaving
386 the surface heterogeneous and reducing the refraction in the voids compared to the control
387 film, in which the starch granules are distributed homogeneously on the surface. Although an
388 increase in opacity was observed after wheat straw nanofibrils was added at a concentration of
389 30%, the values did not differ statistically from the control film, which is desirable, especially
390 for materials used as edible coatings, since high opacity can interfere with the original colour
391 of the coated product, reducing its acceptance (Alves et al., 2015; Martins et al., 2020).

392 The increase in the wheat straw nanofibrils concentration caused a darkening of the
393 surface of the films and an increase in the intensity of the yellowish colouration, as observed
394 by the L*, C* and hue values, as well as by the visual evaluation.

395 **3.3 Mechanical properties**

396 Fig. (7) shows graphs of the mechanical properties of films with different percentages
397 of wheat straw nanofibrils. For comparison purposes, samples of LDPE (60 μm), PA (20 μm),
398 and PVC (14 μm), which are polymers traditionally used as food packaging, were also
399 evaluated.

400 < Fig. (7) >

401 There was an increase in the tensile strength of the films with the addition of wheat
402 straw nanofibrils, regardless of the concentration added (Fig. (7a)). This result indicates that
403 the addition of nanofibrils increased the stiffness of the films. This fact was also evidenced by
404 the Young's modulus values (Fig. (7b)), which also increased with the increase in wheat straw
405 nanofibrils. In this case, the values followed an increasing linear trend, so formulations with
406 the most nanofibrils (30 and 50%) had the highest mean Young's modulus. A similar
407 behaviour was observed by Hietala et al. (2013), who found an increase in the Young's
408 modulus values of potato starch biocomposites with the increase in the cellulose nanofibrils
409 concentration, with the maximum Young's modulus value corresponding to the maximum
410 addition percentage (20%). Yang et al. (2018) also observed an increasing linear behaviour
411 for the Young's modulus values of polylactic acid biocomposites with the addition of wheat
412 straw nanofibrils in the concentration range of 10 to 40%. The increased stiffness of the films
413 brought by the presence of cellulose nanofibrils has been reported by several authors and is
414 attributed to the small size of the nanofibrils, which allows strong percolated networks of
415 hydrogen bonds to form between the nanofibrils and the polymer matrix, in addition to the
416 intrinsic high stiffness characteristic of the highly crystalline structure of nanofibrils (Fahma
417 et al., 2017; Kargarzadeh et al., 2017; Marques et al., 2019; Pelissari et al., 2017; Santana et
418 al., 2017). Despite the amount of wheat straw nanofibrils added, the tensile strength and
419 Young's modulus values were considerably higher than those brought about by the traditional
420 LDPE, PA, and PVC polymers, as can also be observed in Fig. (7a-b).

421 The opposite behaviour was observed for the elongation values (Fig. (7c)), which
422 showed a considerable decrease with the addition of wheat straw nanofibrils, with no
423 significant difference between the different percentage groups. This result indicates that the
424 addition of nanofibrils made the films less flexible, and flexibility was inversely proportional

425 to the observed increase in stiffness. This inverse relationship has been reported by several
426 authors (Gironès et al., 2012; Kaewtatip and Thongmee, 2014; Pelissari et al., 2017; Travalini
427 et al., 2019; Vallejos et al., 2011) and is related to the high stiffness imposed by the presence
428 of nanofibrils, which may result in lower molecule mobility, thus reducing the flexibility of
429 the films. In addition, the presence of free OH groups resulting from the hydrogen-bonding
430 interactions between the starch molecules and the nanofibrils, verified by FTIR spectra (Fig.
431 (4)), contributes to the restricted mobility of the chains (Chang et al., 2010; Follain et al.,
432 2013; Noshirvani et al., 2016). In the case of elongation at break, the traditional LDPE, PA,
433 and PVC polymers showed values significantly higher than those of the prepared films.
434 Starch-based biopolymers, especially those reinforced with cellulose nanofibrils, tend to have
435 greater stiffness and a consequent decrease in elasticity. Furthermore, the amount of sorbitol
436 (plasticizer) added remained the same for all treatments and was calculated based on the total
437 mass of the cassava starch. Thus, in films with added nanofibrils, because they have higher
438 mass/volume ratios, the amount of plasticizer may have been too low to promote good
439 flexibility.

440 Contrary to the behaviour observed for the tensile strength and Young's modulus
441 variables, the maximum puncture force decreased with the addition of wheat straw
442 nanofibrils, and the treatments with nanofibril concentrations of 20 to 30% exhibited the
443 lowest means (Fig. (7d)). The mechanical response of the material will depend on the type of
444 force applied and the orientation and degree of ordering of the polymer chains. Thus, it is
445 common for a given material to present better or worse performance according to the type of
446 mechanical test. According to Tian et al. (2018), when the order of the macromolecules of the
447 nanofibrils reaches a limit, the tensile strength tends to stabilize, while the puncture force
448 values decrease because, in this type of test, the puncture force acts on the membrane of the
449 fibre, not only overcoming the friction between chains of molecules but also breaking some of

450 these chains. Considering the high degree of molecular orientation, which is characteristic of
451 the highly crystalline structure of the cellulose nanofibrils, it made sense that the formulations
452 with the highest percentage of wheat straw nanofibrils added performed worse in the puncture
453 test.

454 Although the addition of wheat straw nanofibrils has promoted an increase in the
455 strength of starch films, studies about the type and amount of plasticizing agent to be used
456 should be conducted to optimize the mechanical properties. Based on the results obtained, the
457 use of films for applications that do not require great malleability, such as edible coatings, is
458 suggested.

459 **3.4 Barrier and hydrophobicity properties.**

460 Table 2 shows the data for the WVP, water solubility, contact angle, water absorption
461 (Cobb test), SFE, wettability and solubility of cassava starch-based films with different
462 percentages of wheat straw nanofibrils. For comparison, the same tests were also conducted
463 on the reference polymers LDPE, PA, and PVC.

464 < Table 2 >

465 A significant reduction in the water vapour permeability of the films was observed
466 when the concentration of wheat straw nanofibrils was 30%. A decrease in the WVP of films
467 caused by the addition of cellulose nanofibrils is often observed and can be attributed to the
468 strong network formed between the starch molecules and the cellulose nanofibrils through
469 hydrogen bonds, which restricts the mobility of the polymer chains, reducing the solubility of
470 the water molecules in the matrix, as well as the high crystallinity and high degree of
471 molecular orientation of the nanofibrils, which lower the diffusion coefficient and imposes an
472 intricate path that restricts the passage of water molecules (Garcia et al., 2009; Jiang et al.,
473 2016; Kaushik et al., 2010; Noshirvani et al., 2016). The behaviour observed for this variable

474 supports the hypothesis that higher concentrations of wheat straw nanofibrils can form
475 stronger, continuous, and homogeneous structures with the polymer matrix, leading to better
476 performance, as observed in the tensile test and confirmed by FTIR spectra (Fig. (4)). The test
477 performed on the traditional LDPE, PA, and PVC polymers showed lower WVP values for
478 these materials than for the films. In fact, due to their more hydrophilic nature, starch-based
479 biopolymers tend to have higher WVP values than conventional plastics. However, the
480 addition of wheat straw nanofibrils at concentrations of 30 to 50% promotes a decrease in the
481 WVP values of films, making their properties closer to those of traditional polymers.

482 According to the contact angle values obtained, all films can be considered
483 hydrophilic (values $<90^\circ$) (Yuan and Lee, 2013). However, the contact angle values increased
484 with the increase in the percentage of wheat straw nanofibrils. This finding can be explained
485 by the fact that although both are hydrophilic, cellulose nanofibrils tend to be less
486 hygroscopic than starch due to their higher degree of molecular order, which gives them better
487 barrier properties (Kaushik et al., 2010). In addition, the contact angle values seem to depend
488 on the degree of crosslinking of polymeric materials (Al-Jumaili et al., 2019). Thus, because
489 of the strong bond between the wheat straw nanofibrils and the starch molecules, limited the
490 water may be absorbed by the surface of the films, as already discussed for WVP, and may
491 contribute to the increase in the contact angle. Although the reference polymers LDPE, PA,
492 and PVC had higher contact angles than the films, they can also be classified as hydrophilic
493 based on the range of values presented. It can therefore be stated that the addition of wheat
494 straw nanofibrils made the contact angles of the cassava starch-based biopolymers closer to
495 those of traditional polymers, reducing their hydrophilicity. The contact angles of the films
496 and their behaviour over time are depicted in Fig. (8).

497 < Fig. (8) >

498 The Cobb test indicated significantly lower water absorption values for the treatments
499 with wheat straw nanofibril concentrations of 30% and 50% than for the control, but these
500 values were still higher than those of the reference polymers. As discussed above, in addition
501 to the hydrophilic nature of cellulose nanofibrils relative to starch, the strong interaction
502 between nanofibrils and starch molecules reduces the free space between the molecules of the
503 compounds, thus restricting the penetration and absorption of water (Ruhul Amin et al.,
504 2019). Thus, the fact that the best results were observed for the treatments with the maximum
505 addition of wheat straw nanofibrils (30% and 50%) confirms what has been put forth
506 previously, that these treatments have a stronger interaction between the nanofibrils and the
507 starch molecules, which culminates in better mechanical and barrier properties. This
508 conclusion can be evidenced by our analysis of the SFE data, in which the treatments with 30
509 and 50% wheat straw nanofibrils showed lower polar component values and, thus, lower
510 polarity values. The values shown for these two variables are below those obtained for the
511 reference polymers. On the other hand, the treatment with a wheat straw nanofibrils
512 concentration of 10% showed SFE polar and polarity values significantly higher than the
513 control sample, indicating higher hydrophilicity and therefore weaker barrier properties,
514 which corroborates the results on WVP and water absorption (Cobb test). As discussed above,
515 this treatment showed poorer performance on most of the tests, which can be attributed to the
516 presence of isolated clusters of nanofibrils and a weak bond network with the starch
517 molecules.

518 Although no significant effect was observed on water solubility and wettability, the
519 results obtained for the other parameters related to barrier properties indicate a reduction in
520 the hydrophilicity of starch-based films by adding wheat straw nanofibrils, especially at
521 concentration values from 30 to 50%. Studies involving the application of the films developed
522 in different matrices are necessary, to define the best applicability.

523 3.5 Principal component analysis and hierarchical clustering (PCA)

524 To visualize the main effects of adding wheat straw nanofibrils on the mechanical and
525 barrier properties of cassava starch-based biocomposites, PCA (Fig. (9a)) and hierarchical
526 clustering (Fig. (9b)) were performed. The PCA-loading values are shown in Table 3.

527 < Fig. (9) >

528 < Table 3 >

529 PC1 and PC2 explained 60.5% and 27.8% of the total variation in the data,
530 respectively. According to the loading analysis (Table 2), the variables L*, C*, Young's
531 modulus, puncture force, WVP, contact angle, Cobb value, SFE (total and dispersed) and
532 polarity were responsible for the separations in PC1, while thickness, opacity, hue, tensile
533 strength, elongation and SFE (polar component) were responsible for the separations in PC2.

534 Correlating the PCA graphs and hierarchical clustering, it is observed that the control
535 treatment is isolated in a group (cluster); therefore, it can be inferred that the addition of
536 wheat straw nanofibrils promoted changes in the properties of the cassava starch-based films,
537 despite the added concentration. The control sample is characterized by higher values of
538 elongation and puncture force, in addition to higher clarity (L* value). The treatments with
539 nanofibril concentrations of 10% and 20% (treatments 2 and 3) make up the second cluster,
540 indicating that these treatments showed similar characteristics, highlighted by higher
541 thickness, SFE (total, polar and dispersed), polarity and WVP values. This result corroborates
542 the data presented, showing that the lowest wheat straw nanofibril concentrations values,
543 especially the value of 10%, showed inferior performance for the mechanical and barrier
544 properties of the films. Finally, a third cluster was formed, encompassing the treatments with
545 wheat straw nanofibril concentrations of 30% and 50% (treatments 4 and 5). These treatments
546 were characterized by better performance in the tensile test (evidenced by higher values of

547 tensile strength and Young's modulus), higher hydrophobicity (evidenced by higher of contact
548 angle values, as well as lower WVP, Cobb value and polarity), and more intense yellowish
549 colouration (higher C* hue values). In fact, the above data demonstrate that the wheat straw
550 nanofibril concentration values ranging from 30 to 50% were able to increase the stiffness of
551 the films and decrease their hydrophilicity, contributing to decreased WVP and water
552 absorption.

553 **4 Conclusions**

554 The addition of wheat straw nanofibrils promotes modifications in the mechanical and
555 barrier properties of cassava starch-based films. Wheat straw nanofibril concentrations of up
556 to 10% showed isolated agglomerations on the surfaces of the films, demonstrating lower
557 performances than the other formulations. Wheat straw nanofibril concentration values from
558 30 to 50% are recommended to reinforce the structure and improve the barrier properties of
559 cassava starch-based films because they showed better performance in the tests performed.
560 Cassava starch-based films reinforced with wheat straw nanofibrils have been shown to be
561 potential sustainable alternatives to traditional polymers, and their application should be
562 investigated.

563 **Acknowledgements**

564 The authors thank Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais
565 (FAPEMIG), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and
566 Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). We also thank
567 PPGCA (UFLA), LME (UFLA), DCF (UFLA) and DCA (UFLA).

568 **References**

569 Abdulla, A.H.D., Pudjirahar, S., Karina, M., Dwi Putri, O., Fauziyyah, R.H., 2018.

- 570 Fabrication and Characterization of Sweet Potato Starch-based Bioplastics Plasticized
571 with Glycerol. *J. Biol. Sci.* 19, 57–64. <https://doi.org/10.3923/jbs.2019.57.64>
- 572 Akhavan, A., Khoylou, F., Ataeivarjovi, E., 2017. Preparation and characterization of gamma
573 irradiated Starch/PVA/ZnO nanocomposite films. *Radiat. Phys. Chem.* 138, 49–53.
574 <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2017.02.057>
- 575 Al-Jumaili, A., Mulvey, P., Kumar, A., Prasad, K., Bazaka, K., Warner, J., Jacob, M. V.,
576 2019. Eco-friendly nanocomposites derived from geranium oil and zinc oxide in one step
577 approach. *Sci. Rep.* 9, 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42211-z>
- 578 Alemdar, A., Sain, M., 2008. Biocomposites from wheat straw nanofibers: Morphology,
579 thermal and mechanical properties. *Compos. Sci. Technol.* 68, 557–565.
580 <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2007.05.044>
- 581 Ali, A., Yu, L., Liu, H., Khalid, S., Meng, L., Chen, L., 2017. Preparation and
582 characterization of starch-based composite films reinforced by corn and wheat hulls. *J.*
583 *Appl. Polym. Sci.* 134. <https://doi.org/10.1002/app.45159>
- 584 Alves, J.S., Dos Reis, K.C., Menezes, E.G.T., Pereira, F. V., Pereira, J., 2015. Effect of
585 cellulose nanocrystals and gelatin in corn starch plasticized films. *Carbohydr. Polym.*
586 115, 215–222. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.08.057>
- 587 ASTM, 2002. American Society for Testing and Materials. D 882-02: Standard Test Method
588 for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. *ASTM Int.* 14, 1–10.
- 589 ASTM D724 – 99, 2003. Standard test method for surface wettability of paper (Angle-of-
590 contact method). *ASTM Int.* D724, 1–4.
- 591 ASTM E 96 (1995), 1995. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of

- 592 Materials, E 96/E 96M - 05. ASTM Int. i, 1–8.
- 593 Bel Haaj, S., Thielemans, W., Magnin, A., Boufi, S., 2016. Starch nanocrystals and starch
594 nanoparticles from waxy maize as nanoreinforcement: A comparative study. *Carbohydr.*
595 *Polym.* 143, 310–317. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.01.061>
- 596 Besbes, I., Alila, S., Boufi, S., 2011a. Nanofibrillated cellulose from TEMPO-oxidized
597 eucalyptus fibres: Effect of the carboxyl content. *Carbohydr. Polym.* 84, 975–983.
598 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.052>
- 599 Besbes, I., Vilar, M.R., Boufi, S., 2011b. Nanofibrillated cellulose from Alfa, Eucalyptus and
600 Pine fibres: Preparation, characteristics and reinforcing potential. *Carbohydr. Polym.* 86,
601 1198–1206. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.06.015>
- 602 Bian, H., Gao, Y., Luo, J., Jiao, L., Wu, W., Fang, G., Dai, H., 2019. Lignocellulosic
603 nanofibrils produced using wheat straw and their pulping solid residue: From agricultural
604 waste to cellulose nanomaterials. *Waste Manag.* 91, 1–8.
605 <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.04.052>
- 606 Bilbao-Sainz, C., Bras, J., Williams, T., Sénechal, T., Orts, W., 2011. HPMC reinforced with
607 different cellulose nano-particles. *Carbohydr. Polym.* 86, 1549–1557.
608 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.06.060>
- 609 Boufi, S., Kaddami, H., Dufresne, A., 2014. Mechanical performance and transparency of
610 nanocellulose reinforced polymer nanocomposites. *Macromol. Mater. Eng.* 299, 560–
611 568. <https://doi.org/10.1002/mame.201300232>
- 612 Carpiné, D., Dagostin, J.L.A., de Andrade, E.F., Bertan, L.C., Mafra, M.R., 2016. Effect of
613 the natural surfactant *Yucca schidigera* extract on the properties of biodegradable
614 emulsified films produced from soy protein isolate and coconut oil. *Ind. Crops Prod.* 83,

- 615 364–371. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.01.014>
- 616 Chandra, C.S.J., George, N., Narayanankutty, S.K., 2016. Isolation and characterization of
617 cellulose nanofibrils from arecanut husk fibre. *Carbohydr. Polym.* 142, 158–166.
618 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.01.015>
- 619 Chang, P.R., Jian, R., Yu, J., Ma, X., 2010. Starch-based composites reinforced with novel
620 chitin nanoparticles. *Carbohydr. Polym.* 80, 420–425.
621 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.11.041>
- 622 Chen, L., Dou, J., Ma, Q., Li, N., Wu, R., Bian, H., Yelle, D.J., Vuorinen, T., Fu, S., Pan, X.,
623 Zhu, J., 2017. Rapid and near-complete dissolution of wood lignin at $\leq 80^\circ\text{C}$ by a
624 recyclable acid hydrotrope. *Sci. Adv.* 3. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1701735>
- 625 Chuang, L., Panyoyai, N., Shanks, R.A., Kasapis, S., 2017. Effect of salt on the glass
626 transition of condensed tapioca starch systems. *Food Chem.* 229, 120–126.
627 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.063>
- 628 Dole, P., Joly, C., Espuche, E., Alric, I., Gontard, N., 2004. Gas transport properties of starch
629 based films. *Carbohydr. Polym.* 58, 335–343.
630 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.08.002>
- 631 Espinosa, E., Domínguez-Robles, J., Sánchez, R., Tarrés, Q., Rodríguez, A., 2017. The effect
632 of pre-treatment on the production of lignocellulosic nanofibers and their application as a
633 reinforcing agent in paper. *Cellulose* 24, 2605–2618. [https://doi.org/10.1007/s10570-](https://doi.org/10.1007/s10570-017-1281-2)
634 [017-1281-2](https://doi.org/10.1007/s10570-017-1281-2)
- 635 Fahma, F., Sugiarto, Sunarti, T.C., Indriyani, S.M., Lisdayana, N., 2017. Thermoplastic
636 Cassava Starch-PVA Composite Films with Cellulose Nanofibers from Oil Palm Empty
637 Fruit Bunches as Reinforcement Agent. *Int. J. Polym. Sci.* 2017, 1–6.

- 638 <https://doi.org/10.1155/2017/2745721>
- 639 Follain, N., Belbekhouche, S., Bras, J., Siqueira, G., Marais, S., Dufresne, A., 2013. Water
640 transport properties of bio-nanocomposites reinforced by *Luffa cylindrica* cellulose
641 nanocrystals. *J. Memb. Sci.* 427, 218–229. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2012.09.048>
- 642 Fonseca, A.S., Panthapulakkal, S., Konar, S.K., Sain, M., Bufalino, L., Raabe, J., Miranda,
643 I.P.A., Martins, M.A., Tonoli, G.H.D., 2019. Improving cellulose nanofibrillation of
644 non-wood fiber using alkaline and bleaching pre-treatments. *Ind. Crops Prod.* 131, 203–
645 212. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.046>
- 646 Galdeano, M.C., Wilhelm, A.E., Mali, S., Grossmann, M.V.E., 2013. Influence of thickness
647 on properties of plasticized oat starch films. *Brazilian Arch. Biol. Technol.* 56, 637–644.
648 <https://doi.org/10.1590/S1516-89132013000400014>
- 649 García, A., Gandini, A., Labidi, J., Belgacem, N., Bras, J., 2016. Industrial and crop wastes: A
650 new source for nanocellulose biorefinery. *Ind. Crops Prod.* 93, 26–38.
651 <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.06.004>
- 652 Garcia, N.L., Ribba, L., Dufresne, A., Aranguren, M.I., Goyanes, S., 2009. Physico-
653 Mechanical properties of biodegradable starch nanocomposites. *Macromol. Mater. Eng.*
654 294, 169–177. <https://doi.org/10.1002/mame.200800271>
- 655 Gironès, J., López, J.P., Mutjé, P., Carvalho, A.J.F., Curvelo, A.A.S., Vilaseca, F., 2012.
656 Natural fiber-reinforced thermoplastic starch composites obtained by melt processing.
657 *Compos. Sci. Technol.* 72, 858–863. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2012.02.019>
- 658 Gontard, N., Duchez, C., Cuq, J. - L., Guilbert, S., 1994. Edible composite films of wheat
659 gluten and lipids: water vapor permeability and other physical properties. *Int. J. Food*
660 *Sci. Technol.* 29, 39–50. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb02045.x>

- 661 Guimarães, I.C., dos Reis, K.C., Menezes, E.G.T., Rodrigues, A.C., da Silva, T.F., de
662 Oliveira, I.R.N., Vilas Boas, E.V. de B., 2016. Cellulose microfibrillated suspension of
663 carrots obtained by mechanical defibrillation and their application in edible starch films.
664 *Ind. Crops Prod.* 89, 285–294. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.05.024>
- 665 Guimarães, M., Botaro, V.R., Novack, K.M., Teixeira, F.G., Tonoli, G.H.D., 2015.
666 Starch/PVA-based nanocomposites reinforced with bamboo nanofibrils. *Ind. Crops Prod.*
667 70, 72–83. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.014>
- 668 Hafizulhaq, F., Abrial, H., Kasim, A., Arief, S., Affi, J., 2018. Moisture absorption and opacity
669 of starch-based biocomposites reinforced with cellulose fiber from bengkoang. *Fibers* 6.
670 <https://doi.org/10.3390/fib6030062>
- 671 Han, J., Zhou, C., Wu, Y., Liu, F., Wu, Q., 2013. Self-assembling behavior of cellulose
672 nanoparticles during freeze-drying: Effect of suspension concentration, particle size,
673 crystal structure, and surface charge. *Biomacromolecules* 14, 1529–1540.
674 <https://doi.org/10.1021/bm4001734>
- 675 Hietala, M., Mathew, A.P., Oksman, K., 2013. Bionanocomposites of thermoplastic starch
676 and cellulose nanofibers manufactured using twin-screw extrusion. *Eur. Polym. J.* 49,
677 950–956. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2012.10.016>
- 678 Jaramillo, C.M., Gutiérrez, T.J., Goyanes, S., Bernal, C., Famá, L., 2016. Biodegradability
679 and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. *Carbohydr.*
680 *Polym.* 151, 150–159. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.025>
- 681 Jiang, L., Walczyk, D., McIntyre, G., Bucinell, R., 2016. A New Approach To Manufacturing
682 Biocomposite Sandwich Structures: Mycelium-Based Cores. Conference: ASME 2016
683 International Manufacturing Science and Engineering Conference At: Blacksburg,

- 684 Virginia, USA. 1–11. <https://doi.org/10.1115/MSEC2016-8864>
- 685 Kaelble, D.H., 1970. Dispersion-Polar Surface Tension Properties of Organic Solids. *J.*
686 *Adhes.* 2, 66–81. <https://doi.org/10.1080/0021846708544582>
- 687 Kaewtatip, K., Thongmee, J., 2014. Preparation of thermoplastic starch/treated bagasse fiber
688 composites. *Starch/Staerke* 66, 724–728. <https://doi.org/10.1002/star.201400005>
- 689 Kargarzadeh, H., Johar, N., Ahmad, I., 2017. Starch biocomposite film reinforced by
690 multiscale rice husk fiber. *Compos. Sci. Technol.* 151, 147–155.
691 <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2017.08.018>
- 692 Kaushik, A., Singh, M., 2011. Isolation and characterization of cellulose nanofibrils from
693 wheat straw using steam explosion coupled with high shear homogenization. *Carbohydr.*
694 *Res.* 346, 76–85. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2010.10.020>
- 695 Kaushik, A., Singh, M., Verma, G., 2010. Green nanocomposites based on thermoplastic
696 starch and steam exploded cellulose nanofibrils from wheat straw. *Carbohydr. Polym.*
697 82, 337–345. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.04.063>
- 698 Lago, R.C. do, de Oliveira, A.L.M., Cordasso Dias, M., de Carvalho, E.E.N., Denzin Tonoli,
699 G.H., de Barros Vilas Boas, E.V., 2020. Obtaining cellulosic nanofibrils from oat straw
700 for biocomposite reinforcement: Mechanical and barrier properties. *Ind. Crops Prod.*
701 148. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112264>
- 702 Liu, Q., Lu, Y., Aguedo, M., Jacquet, N., Ouyang, C., He, W., Yan, C., Bai, W., Guo, R.,
703 Goffin, D., Song, J., Richel, A., 2017. Isolation of High-Purity Cellulose Nanofibers
704 from Wheat Straw through the Combined Environmentally Friendly Methods of Steam
705 Explosion, Microwave-Assisted Hydrolysis, and Microfluidization. *ACS Sustain. Chem.*
706 *Eng.* 5, 6183–6191. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b01108>

- 707 Lomelí-Ramírez, M.G., Kestur, S.G., Manríquez-González, R., Iwakiri, S., De Muniz, G.B.,
708 Flores-Sahagun, T.S., 2014. Bio-composites of cassava starch-green coconut fiber: Part
709 II - Structure and properties. *Carbohydr. Polym.* 102, 576–583.
710 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.11.020>
- 711 López-Córdoba, A., Medina-Jaramillo, C., Piñeros-Hernandez, D., Goyanes, S., 2017.
712 Cassava starch films containing rosemary nanoparticles produced by solvent
713 displacement method. *Food Hydrocoll.* 71, 26–34.
714 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.04.028>
- 715 Luchese, C.L., Garrido, T., Spada, J.C., Tessaro, I.C., de la Caba, K., 2018. Development and
716 characterization of cassava starch films incorporated with blueberry pomace. *Int. J. Biol.*
717 *Macromol.* 106, 834–839. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.083>
- 718 Marques, G.S., de Carvalho, G.R., Marinho, N.P., de Muniz, G.I.B., de Matos Jorge, L.M.,
719 Jorge, R.M.M., 2019. Production and characterization of starch-based films reinforced
720 by ramie nanofibers (*Boehmeria nivea*). *J. Appl. Polym. Sci.* 136, 1–11.
721 <https://doi.org/10.1002/app.47919>
- 722 Martins, M.P., Dagostin, J.L.A., Franco, T.S., de Muñoz, G.I.B., Masson, M.L., 2020.
723 Application of Cellulose Nanofibrils Isolated from an Agroindustrial Residue of Peach
724 Palm in Cassava Starch Films. *Food Biophys.* 15, 323–334.
725 <https://doi.org/10.1007/s11483-020-09626-y>
- 726 Mei, J.Q., Zhou, D.N., Jin, Z.Y., Xu, X.M., Chen, H.Q., 2015. Effects of citric acid
727 esterification on digestibility, structural and physicochemical properties of cassava
728 starch. *Food Chem.* 187, 378–384. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.076>
- 729 Menon, V., Rao, M., 2012. Trends in bioconversion of lignocellulose: Biofuels, platform

- 730 chemicals & biorefinery concept. *Prog. Energy Combust. Sci.* 38, 522–550.
731 <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2012.02.002>
- 732 Miao, X., Lin, J., Bian, F., 2020. Utilization of discarded crop straw to produce cellulose
733 nanofibrils and their assemblies. *J. Bioresour. Bioprod.* 5, 26–36.
734 <https://doi.org/10.1016/j.jobab.2020.03.003>
- 735 Montaña-Leyva, B., Rodriguez-Felix, F., Torres-Chávez, P., Ramirez-Wong, B., López-
736 Cervantes, J., Sanchez-Machado, D., 2011. Preparation and characterization of durum
737 wheat (*Triticum durum*) straw cellulose nanofibers by electrospinning. *J. Agric. Food*
738 *Chem.* 59, 870–875. <https://doi.org/10.1021/jf103364a>
- 739 Nascimento, D.M., Nunes, Y.L., Figueirêdo, M.C.B., De Azeredo, H.M.C., Aouada, F.A.,
740 Feitosa, J.P.A., Rosa, M.F., Dufresne, A., 2018. Nanocellulose nanocomposite
741 hydrogels: Technological and environmental issues. *Green Chem.* 20, 2428–2448.
742 <https://doi.org/10.1039/c8gc00205c>
- 743 Nechyporchuk, O., Belgacem, M.N., Bras, J., 2016. Production of cellulose nanofibrils: A
744 review of recent advances. *Ind. Crops Prod.* 93, 2–25.
745 <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.02.016>
- 746 Noshirvani, N., Ghanbarzadeh, B., Fasihi, H., Almasi, H., 2016. Starch-PVA Nanocomposite
747 Film Incorporated with Cellulose Nanocrystals and MMT: A Comparative Study. *Int. J.*
748 *Food Eng.* 12, 37–48. <https://doi.org/10.1515/ijfe-2015-0145>
- 749 Oun, A.A., Rhim, J.W., 2016. Isolation of cellulose nanocrystals from grain straws and their
750 use for the preparation of carboxymethyl cellulose-based nanocomposite films.
751 *Carbohydr. Polym.* 150, 187–200. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.020>
- 752 Owens, D.K., Wendt, R.C., 1969. Estimation of the surface free energy of polymers. *J. Appl.*

- 753 Polym. Sci. 13, 1741–1747. <https://doi.org/10.1002/app.1969.070130815>
- 754 Owi, W.T., Ong, H.L., Sam, S.T., Villagracia, A.R., Tsai, C. kuo, Akil, H.M., 2019.
755 Unveiling the physicochemical properties of natural Citrus aurantifolia crosslinked
756 tapioca starch/nanocellulose bionanocomposites. *Ind. Crops Prod.* 139, 111548.
757 <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111548>
- 758 Pelissari, F.M., Andrade-Mahecha, M.M., Sobral, P.J. do A., Menegalli, F.C., 2017.
759 Nanocomposites based on banana starch reinforced with cellulose nanofibers isolated
760 from banana peels. *J. Colloid Interface Sci.* 505, 154–167.
761 <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.05.106>
- 762 Pelissari, F.M., Ferreira, D.C., Louzada, L.B., Dos Santos, F., Corrêa, A.C., Moreira, F.K.V.,
763 Mattoso, L.H., 2018. Starch-based edible films and coatings: An eco-friendly alternative
764 for food packaging, *Starches for Food Application: Chemical, Technological and Health*
765 *Properties.* Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809440-2.00010-1>
- 766 Petroudy, R.S.D., Ranjbar, J., Gararoudy, E.R., 2018. Production of Cellulose Nanofiber
767 (CNF) from wheat straw by carboxylation pretreatment. *J. Wood Wood Prod.* 70, 681–
768 689. <https://doi.org/10.1016/j.jfw.2018.224262.812>
- 769 Pourfarzad, A., Ahmadian, Z., Habibi-Najafi, M.B., 2018. Interactions between polyols and
770 wheat biopolymers in a bread model system fortified with inulin: A Fourier transform
771 infrared study. *Heliyon* 4. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e01017>
- 772 Prachayawarakorn, J., Chaiwatyothin, S., Mueangta, S., Hanchana, A., 2013. Effect of jute
773 and kapok fibers on properties of thermoplastic cassava starch composites. *Mater. Des.*
774 47, 309–315. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2012.12.012>
- 775 Qin, Y., Zhang, S., Yu, J., Yang, J., Xiong, L., Sun, Q., 2016. Effects of chitin nano-whiskers

- 776 on the antibacterial and physicochemical properties of maize starch films. *Carbohydr.*
777 *Polym.* 147, 372–378. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.03.095>
- 778 Rabel, W., 1971. Einige Aspekte der Benetzungstheorie und ihre Anwendung auf die
779 Untersuchung und Veränderung der Oberflächeneigenschaften von Polymeren. *Farb und*
780 *Lack* 77, 997–1005.
- 781 Rajinipriya, M., Nagalakshmaiah, M., Robert, M., Elkoun, S., 2018. Importance of
782 Agricultural and Industrial Waste in the Field of Nanocellulose and Recent Industrial
783 Developments of Wood Based Nanocellulose: A Review. *ACS Sustain. Chem. Eng.* 6,
784 2807–2828. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b03437>
- 785 Rosa, S.M.L., Rehman, N., De Miranda, M.I.G., Nachtigall, S.M.B., Bica, C.I.D., 2012.
786 Chlorine-free extraction of cellulose from rice husk and whisker isolation. *Carbohydr.*
787 *Polym.* 87, 1131–1138. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.08.084>
- 788 Rosli, N.A., Ahmad, I., Abdullah, I., 2013. Isolation and characterization of cellulose
789 nanocrystals from agave angustifolia fibre. *BioResources* 8, 1893–1908.
790 <https://doi.org/10.15376/biores.8.2.1893-1908>
- 791 RStudio Team, 2015. RStudio | Open source & professional software for data science
792 teams. RStudio.
- 793 Ruhul Amin, M., Mahmud, M.A., Anannya, F.R., 2019. Natural Fiber Reinforced Starch
794 Based Biocomposites. *Polym. Sci. - Ser. A* 61, 533–543.
795 <https://doi.org/10.1134/S0965545X1905016X>
- 796 Sánchez, R., Espinosa, E., Domínguez-Robles, J., Loaiza, J.M., Rodríguez, A., 2016. Isolation
797 and characterization of lignocellulose nanofibers from different wheat straw pulps. *Int. J.*
798 *Biol. Macromol.* 92, 1025–1033. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.08.019>

- 799 Santana, J.S., do Rosário, J.M., Pola, C.C., Otoni, C.G., de Fátima FerreiraSoares, N.,
800 Camilloto, G.P., Cruz, R.S., 2017. Cassava starch-based nanocomposites reinforced with
801 cellulose nanofibers extracted from sisal. *J. Appl. Polym. Sci.* 134, 1–9.
802 <https://doi.org/10.1002/app.44637>
- 803 Seligra, P.G., Medina Jaramillo, C., Famá, L., Goyanes, S., 2016. Biodegradable and non-
804 retrogradable eco-films based on starch-glycerol with citric acid as crosslinking agent.
805 *Carbohydr. Polym.* 138, 66–74. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.041>
- 806 Sun, J.X., Sun, X.F., Zhao, H., Sun, R.C., 2004. Isolation and characterization of cellulose
807 from sugarcane bagasse. *Polym. Degrad. Stab.* 84, 331–339.
808 <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2004.02.008>
- 809 Tappi, 2009. Water absorptiveness of sized (non-bibulous) paper , paperboard , and
810 corrugated fiberboard (Cobb test). Tappi 1–6.
- 811 Tian, D., He, C.H., He, J.H., 2018. Macromolecule orientation in nanofibers. *Nanomaterials*
812 8. <https://doi.org/10.3390/nano8110918>
- 813 Travalini, A.P., Lamsal, B., Magalhães, W.L.E., Demiate, I.M., 2019. Cassava starch films
814 reinforced with lignocellulose nanofibers from cassava bagasse. *Int. J. Biol. Macromol.*
815 139, 1151–1161. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.115>
- 816 United States Department of Agriculture (USDA), 2020. Wheat | USDA Foreign Agricultural
817 [WWW Document]. URL <https://www.fas.usda.gov/commodities/wheat> (accessed
818 6.16.21).
- 819 Vallejos, M.E., Curvelo, A.A.S., Teixeira, E.M., Mendes, F.M., Carvalho, A.J.F., Felissia,
820 F.E., Area, M.C., 2011. Composite materials of thermoplastic starch and fibers from the
821 ethanol-water fractionation of bagasse. *Ind. Crops Prod.* 33, 739–746.

- 822 <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.01.014>
- 823 Vassilev, S. V., Baxter, D., Andersen, L.K., Vassileva, C.G., Morgan, T.J., 2012. An
824 overview of the organic and inorganic phase composition of biomass. *Fuel* 94, 1–33.
825 <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2011.09.030>
- 826 Wang, K., Wang, W., Ye, R., Liu, A., Xiao, J., Liu, Y., Zhao, Y., 2017. Mechanical properties
827 and solubility in water of corn starch-collagen composite films: Effect of starch type and
828 concentrations, *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.048>
- 829 Xu, H., Canisag, H., Mu, B., Yang, Y., 2015. Robust and Flexible Films from 100% Starch
830 Cross-Linked by Biobased Disaccharide Derivative. *ACS Sustain. Chem. Eng.* 3, 2631–
831 2639. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.5b00353>
- 832 Xu, J., Krietemeyer, E.F., Boddu, V.M., Liu, S.X., Liu, W.C., 2018. Production and
833 characterization of cellulose nanofibril (CNF) from agricultural waste corn stover.
834 *Carbohydr. Polym.* 192, 202–207. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.017>
- 835 Xu, K., Liu, C., Kang, K., Zheng, Z., Wang, S., Tang, Z., Yang, W., 2018. Isolation of
836 nanocrystalline cellulose from rice straw and preparation of its biocomposites with
837 chitosan: Physicochemical characterization and evaluation of interfacial compatibility.
838 *Compos. Sci. Technol.* 154, 8–17. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2017.10.022>
- 839 Xu, K., Shi, Z., Lyu, J., Zhang, Q., Zhong, T., Du, G., Wang, S., 2020. Effects of
840 hydrothermal pretreatment on nano-mechanical property of switchgrass cell wall and on
841 energy consumption of isolated lignin-coated cellulose nanofibrils by mechanical
842 grinding. *Ind. Crops Prod.* 149, 112317. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112317>
- 843 Yang, S., Bai, S., Wang, Q., 2018. Sustainable packaging biocomposites from polylactic acid
844 and wheat straw: Enhanced physical performance by solid state shear milling process.

- 845 Compos. Sci. Technol. 158, 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2017.12.026>
- 846 Yuan, Y., Lee, T.R., 2013. Surface science techniques, Contact Angle and Wetting Properties.
847 Surface Science Techniques Springer Series, Surface Sciences, New York.
848 <https://doi.org/10.1007/978-3-642-34243-1>
- 849 Zhou, Y.M., Fu, S.Y., Zheng, L.M., Zhan, H.Y., 2012. Effect of nanocellulose isolation
850 techniques on the formation of reinforced poly(vinyl alcohol) nanocomposite films.
851 Express Polym. Lett. 6, 794–804. <https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2012.85>

852

853 **List of figures**

854 **Fig. 1.** Flowchart for obtaining wheat straw nanofibrils: (a) wheat straw flour; (b) alkaline
855 treatment with NaOH; (c) wheat straw after NaOH treatment; (d) wheat straw suspension; (e)
856 microfibrillator; (f) wheat straw nanofibril gel obtained after 30 passes through the
857 microfibrillator.

858 **Fig. 2.** Micrographs obtained by SEM for wheat straw before (a) and after (b) alkaline
859 treatment with NaOH; micrographs obtained by TEM for wheat straw after 10 (c), 20 (d) and
860 30 (e) passes through the microfibrillator. (a-b) 135X magnification; (c-d) 7000X
861 magnification; (e) 12,000X magnification.

862 **Fig. 3.** Graphs of the wheat straw diameter distribution in different treatments. (a) Wheat
863 straw before alkaline treatment with NaOH; (b) wheat straw after alkaline treatment with
864 NaOH; (c) wheat straw nanofibrils after 10 passes through the microfibrillator; (d) wheat
865 straw nanofibrils after 20 passes through the microfibrillator; (e) wheat straw nanofibrils after
866 30 passes through the microfibrillator.

867 **Fig. 4.** FTIR spectra obtained for the wheat straw nanofibril gel and for the films with
868 different percentages of wheat straw nanofibril addition. CNF: wheat straw cellulosic
869 nanofibril gel; CNF50%: films with the addition of 50% wheat straw nanofibrils; CNF30%:
870 films with the addition of 30% wheat straw nanofibrils; CNF20%: films with the addition of
871 20% wheat straw nanofibrils; CNF10%: films with the addition of 10% wheat straw
872 nanofibrils; Control: cassava starch-based films without added wheat straw nanofibrils.

873 **Fig. 5.** Micrographs obtained by SEM for films with different percentages of wheat straw
874 nanofibril addition: (a) control film – cross-section; (b) control film – surface; (c) film with
875 the addition of 10% wheat straw nanofibrils – cross-section; (d) film with the addition of 10%
876 wheat straw nanofibrils – surface; (e) film with the addition of 20% wheat straw nanofibrils –
877 cross-section; (f) film with the addition of 20% wheat straw nanofibrils – surface; (g) film
878 with the addition of 30% wheat straw nanofibrils – cross-section; (h) film with the addition of
879 30% wheat straw nanofibrils – surface; (i) film with the addition of 50% wheat straw
880 nanofibrils – cross-section; (j) film with the addition of 50% wheat straw nanofibrils –
881 surface. Magnifications 135X.

882 **Fig. 6.** Cassava starch-based films obtained with different concentrations of wheat straw
883 nanofibrils: (a) films without added wheat straw nanofibrils; (b) films with addition of 10%
884 wheat straw nanofibrils; (c) films with addition of 20% wheat straw nanofibrils; (d) films with
885 addition of 30% wheat straw nanofibrils; (e) films with addition of 50% wheat straw
886 nanofibrils.

887 **Fig. 7.** Average and standard deviation values for (a) tensile strength; (b) elongation; (c)
888 Young's modulus and (d) puncture force of cassava starch-based films with different
889 concentrations of wheat straw nanofibrils. The lowercase letters in the bars represent
890 statistical comparisons by the Scott-Knott test, and different letters indicate significant

891 differences ($P < 0.05$) between samples. LDPE: low-density polyethylene; PA: polyamide;
892 PVC: polyvinyl chloride.

893 **Fig. 8.** Water contact angle of cassava starch-based films with different concentrations of
894 wheat straw nanofibrils over the analysis time.

895 **Fig. 9.** Graph of principal component analysis (a) and hierarchical clustering (b) for the
896 parameters evaluated in films with different addition percentages of wheat straw nanofibrils:
897 1- control biocomposites; 2- films with the addition of 10% wheat straw nanofibrils; 3- films
898 with the addition of 20% wheat straw nanofibrils; 4- films with the addition of 30% wheat
899 straw nanofibrils; 5- films with the addition of 50% wheat straw nanofibrils.

900

901

902

903

904

905

906

907

908

909

910

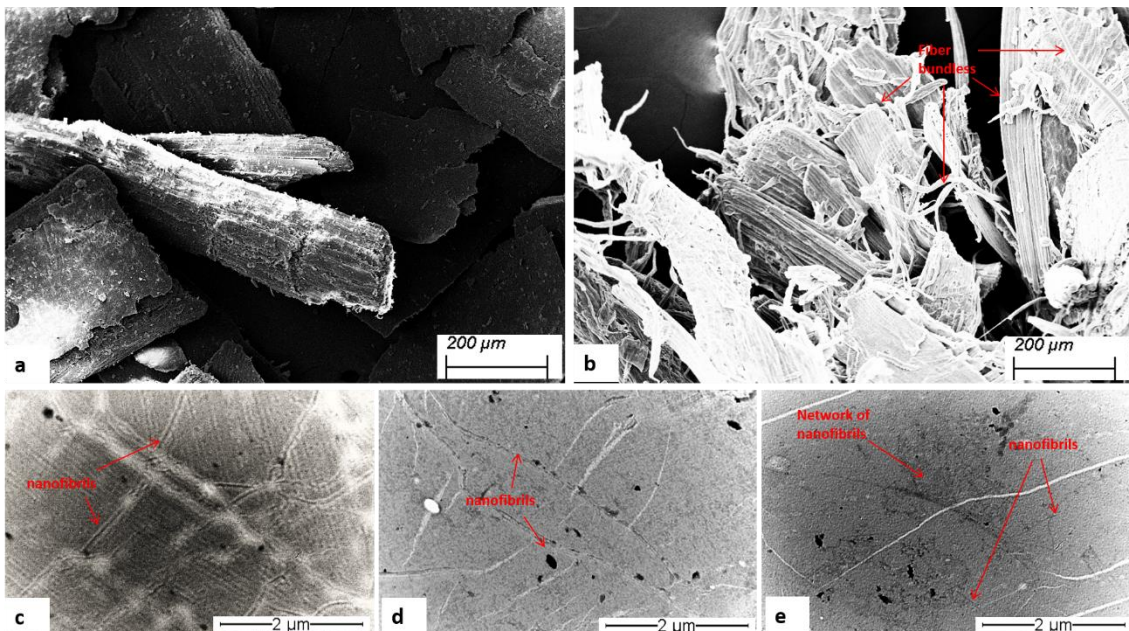
911 **Figures**

912 **Fig. 1.**



913

914 **Fig. 2.**

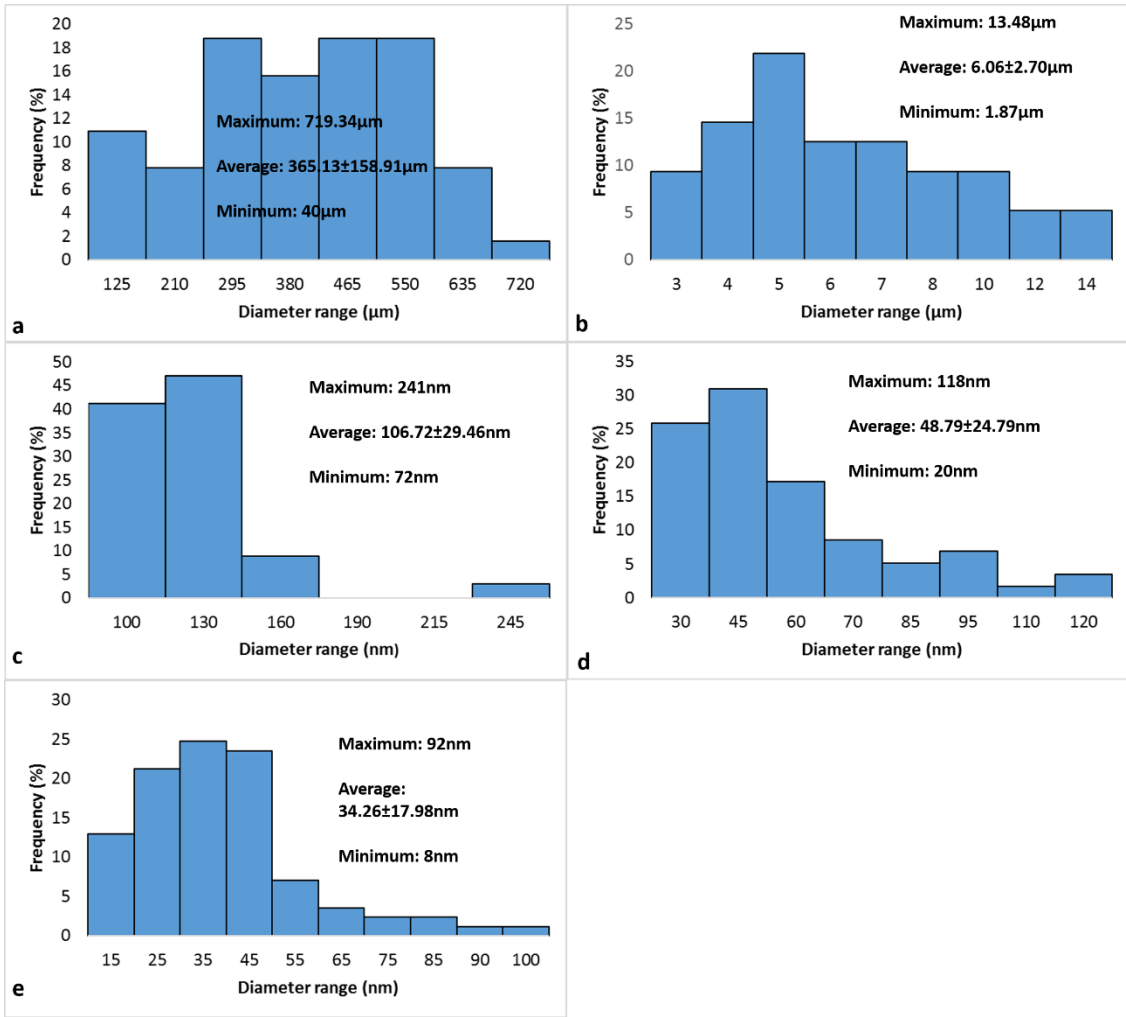


915

916

917

918 **Fig. 3.**



919

920

921

922

923

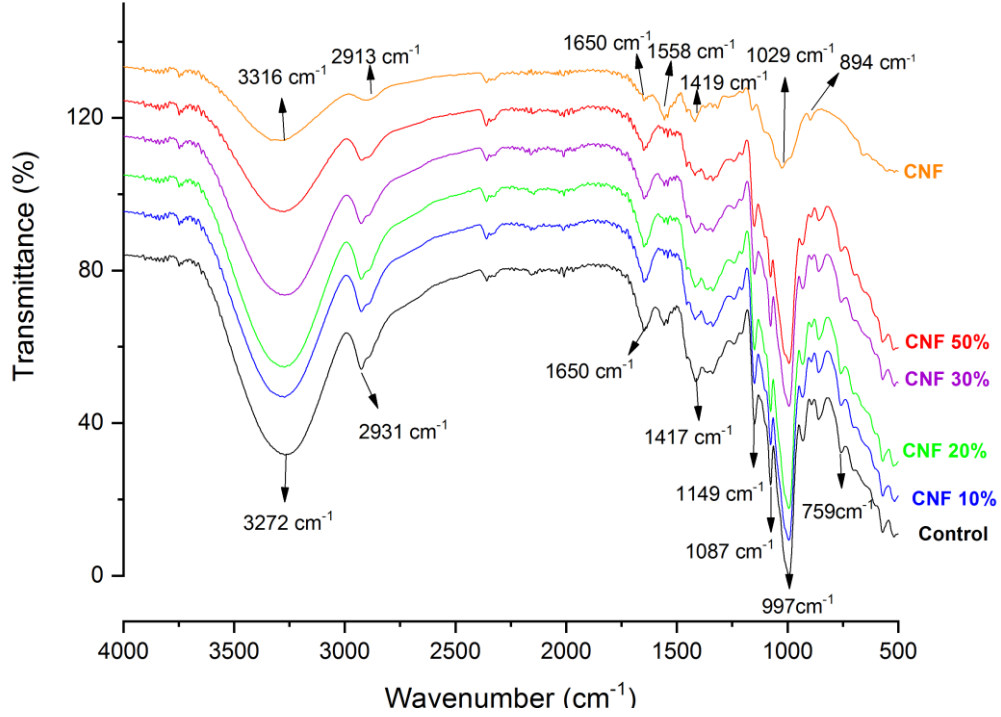
924

925

926

927

928

929 **Fig. 4.**

930

931

932

933

934

935

936

937

938

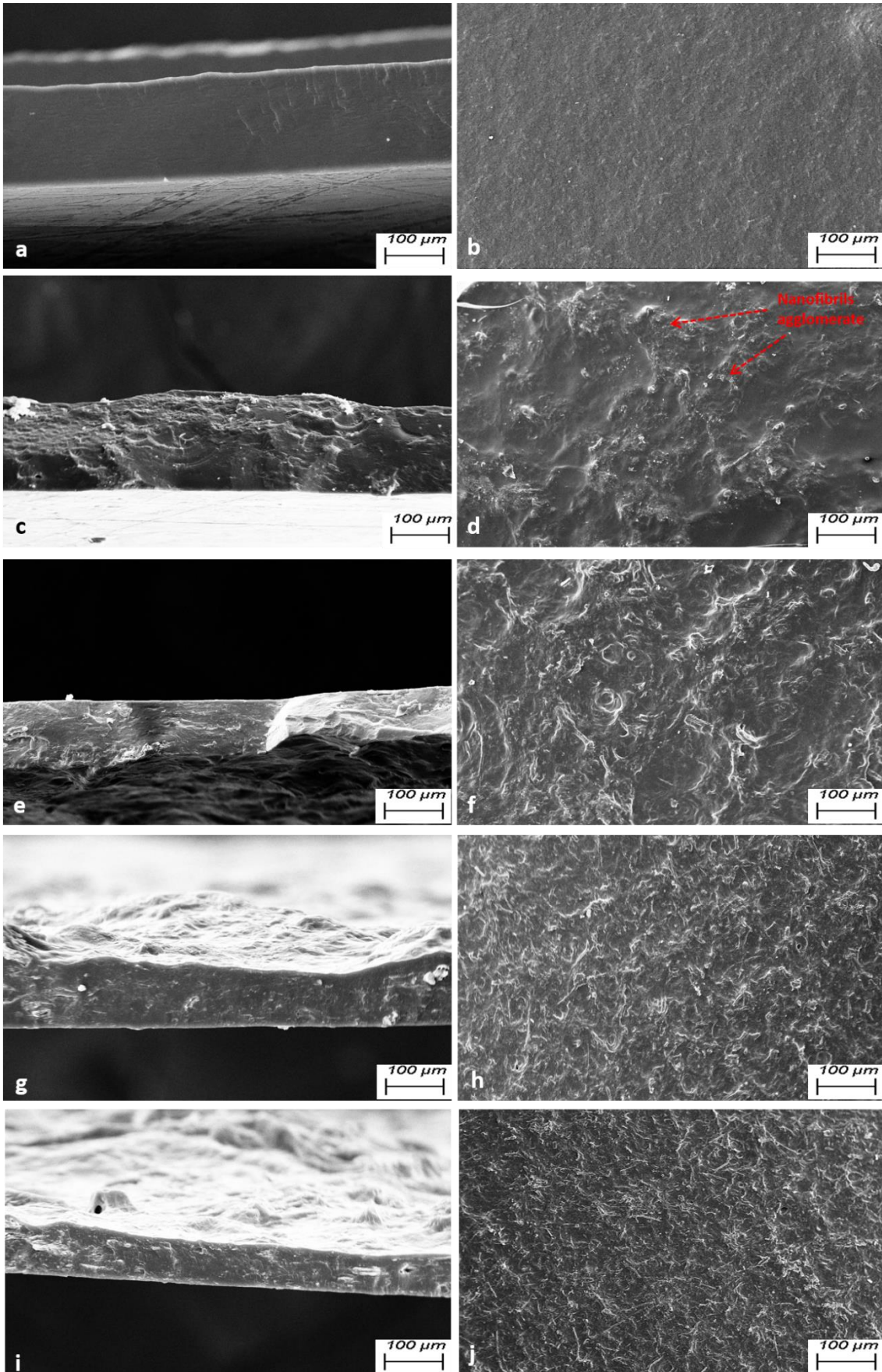
939

940

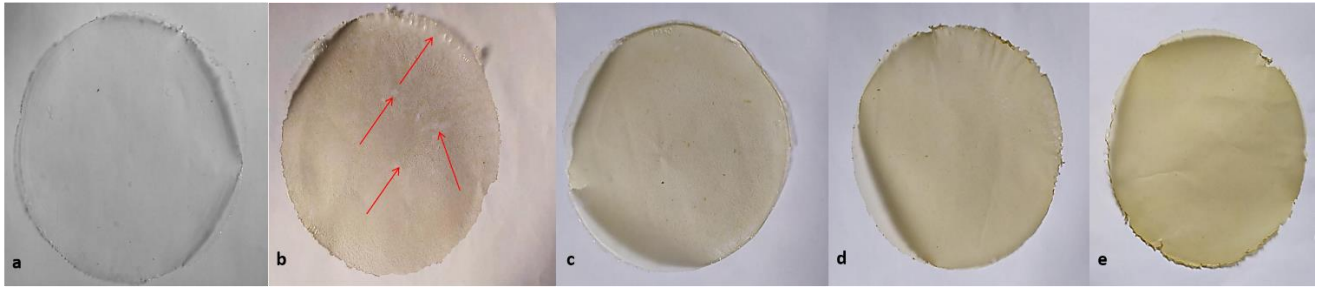
941

942

943 Fig. 5.



945 **Fig. 6.**

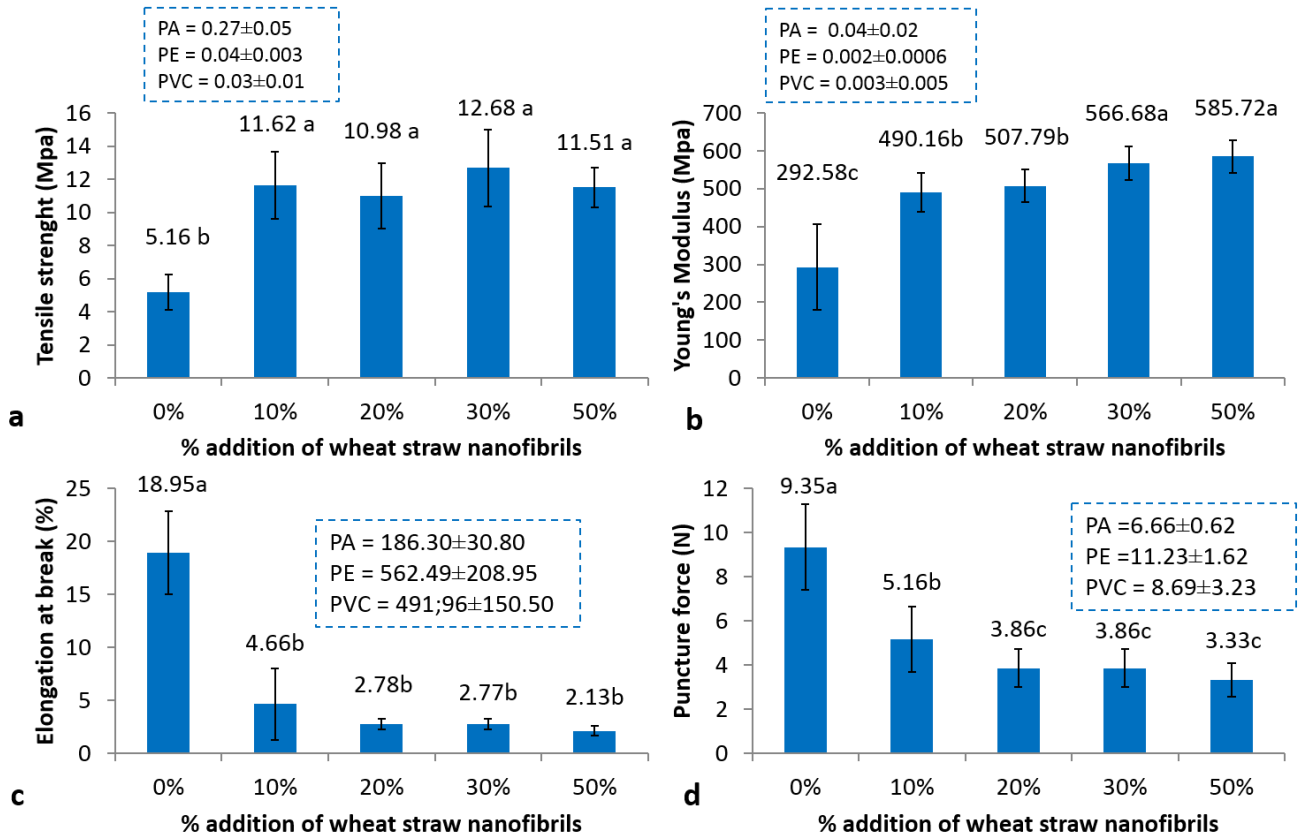


946

947

948 **Fig. 7.**

949



950

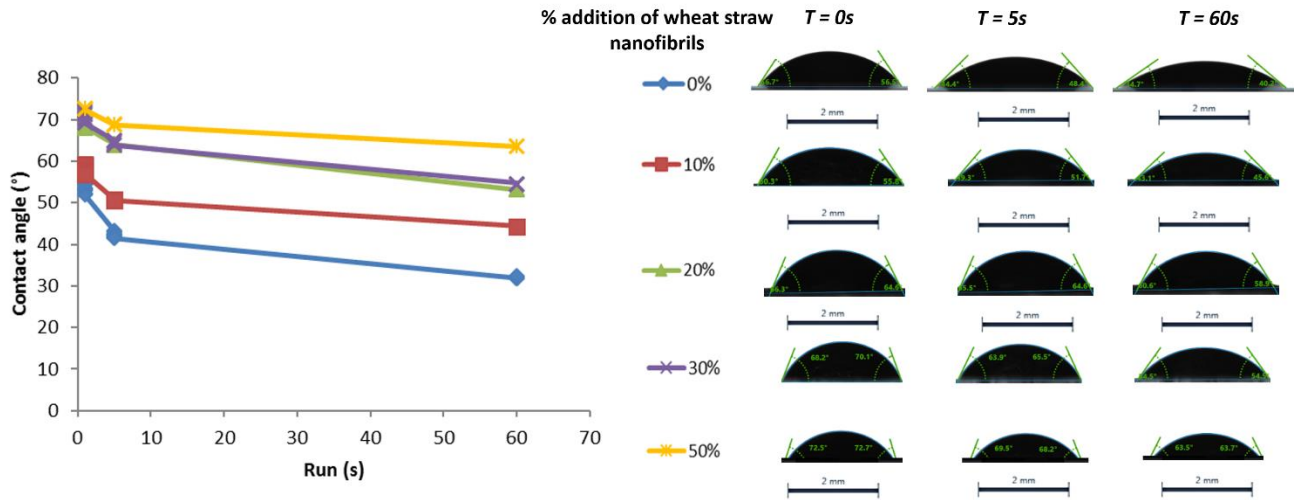
951

952

953

954

955 **Fig. 8.**



956

957

958

959

960

961

962

963

964

965

966

967

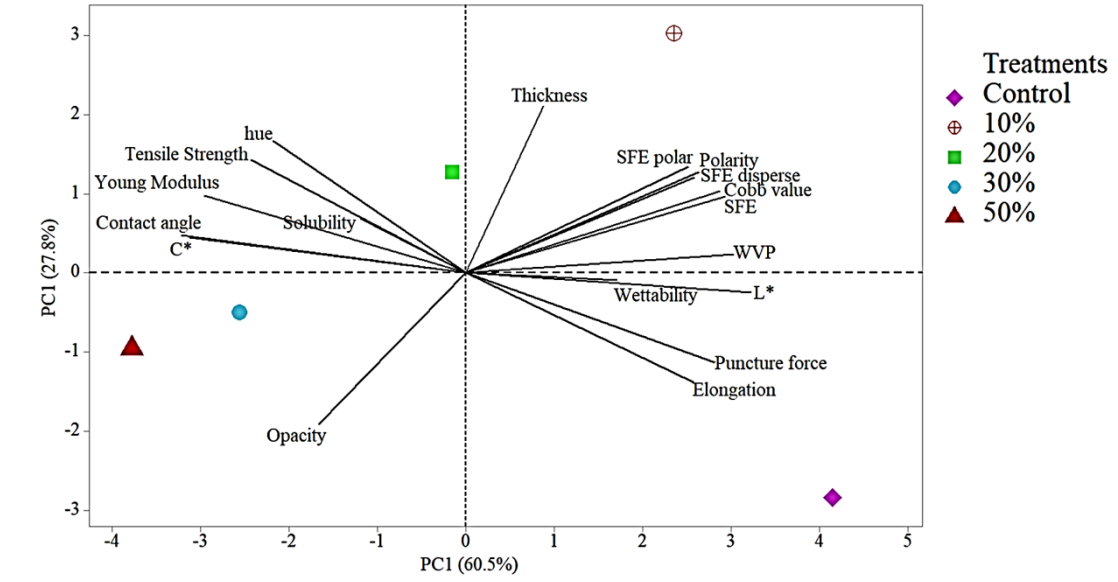
968

969

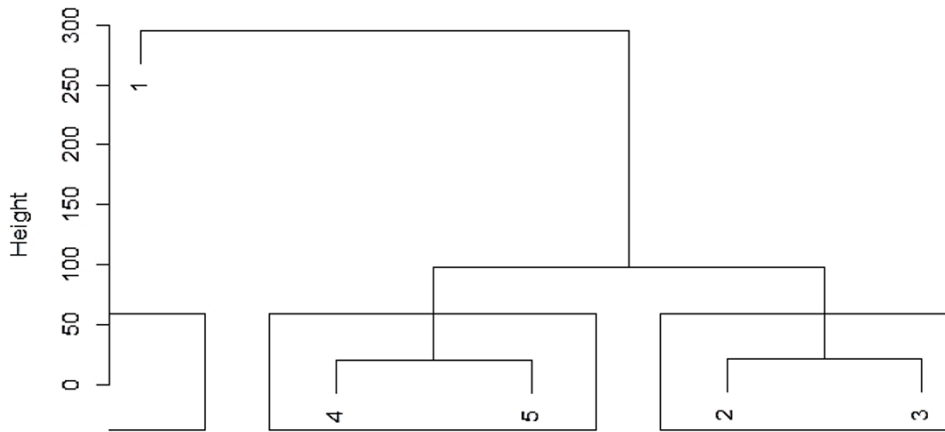
970

971

972 **Fig. 9.**



a



b

973

974

975

976

977

978

979 **Table 1**

980 Thickness, opacity and colouration of cassava starch-based films with different
 981 percentages of wheat straw nanofibrils added.

Sample	Thickness (mm)	Opacity (% μm^{-1})	L*	C*	hue
Control	0.0757±0.09c	0.5303±0.04a	95.24±0.37a	3.24±0.35e	87.94c
CNF10%	0.109±0.018a	0.4231±0.03c	92.64±0.84b	10.33±1.29d	92.25a
CNF20%	0.0913±0.009b	0.4754±0.03b	91.27±0.58c	13.25±0.88c	92.01ab
CNF30%	0.0796±0.008c	0.5483±0.04a	89.79±0.64d	16.48±1.03b	92.14ab
CNF50%	0.0805±0.006c	0.5510±0.03a	87.52±0.92e	19.60±1.26a	91.87b

982 The averages of those followed by the same letters do not differ by Scott Knott test at the
 983 5% significance level. Control: film without the addition of wheat straw nanofibrils;
 984 CNF10%: films with the addition of 10% wheat straw nanofibrils; CNF20%: films with
 985 the addition of 20% wheat straw nanofibrils; CNF30%: films with the addition of 30%
 986 wheat straw nanofibrils; CNF50%: films with the addition of 50% wheat straw
 987 nanofibrils.

988

989 **Table 2**

990 Water vapour permeability (WVP), contact angle, Cobb value, surface free energy (SFE), polarity, water solubility and wettability of cassava
 991 starch-based films with different percentages of wheat straw nanofibrils added.

Sample	WVP x 10 ⁻⁶ (g mm/KPa ⁻¹ dia ⁻¹ m ²)	Contact angle (°)	Cobb value (g m ²)	SFE (mN m ⁻¹ 1)	SFE polar (mN m ⁻¹)	SFE disperse (mN m ⁻¹)	Polarity	Solubility (%)	Wettability (° s ⁻¹)
Control	2.15±0.54a	43.45±3.28d	128.68±12.96a	37.02±2.80a	4.06±1.41b	30.99±1.40a	0.11±0.03b	23.43±2.17a	0.168±0.03a
CNF10%	1.96±0.29a	52.01±1.81c	141.78±25.54a	41.35±7.01a	8.84±2.48a	32.52±4.55a	0.21±0.02a	24.09±1.96a	0.145±0.03a
CNF20%	2.02±0.27a	63.16±0.78b	125.22±9.11a	33.55±5.61a	3.22±1.39b	31.58±2.46a	0.09±0.03b	27.33±2.35a	0.164±0.08a
CNF30%	1.45±0.13b	61.81±2.18b	99.84±16.04b	29.72±4.18a	0.41±0.28c	29.64±3.65a	0.01±0.009c	25.87±1.45a	0.169±0.02a
CNF50%	1.39±0.11b	68.63±0.14a	99.31±9.13b	27.60±1.84a	0.19±0.15c	27.59±1.56a	0.007±0.006c	24.72±4.27a	0.1005±0.009a
LDPE	0.35±0.01	80.72±3.28	8.54±2.17	21.05±8.56	2.14±2.46	18.71±6.38	0.08±0.08	0.00	0.06±0.06
PA	0.37±0.00	75.24±2.99	52.34±24.77	42.6±4.24	0.77±0.76	41.49±3.50	0.017±0.016	0.00	0.06±0.00
PVC	0.26±0.00	81.51±1.78	64.55±20.14	24.59±0.95	1.06±1.36	23.58±2.22	0.04±0.04	0.00	0.04±0.03

992 The average values of those followed by the same letters do not differ by Scott Knott test at the 5% significance level. Control: film without the
 993 addition of wheat straw nanofibrils; CNF10%: films with the addition of 10% wheat straw nanofibrils; CNF20%: films with the addition of 20%

994 wheat straw nanofibrils; CNF30%: films with the addition of 30% wheat straw nanofibrils; CNF50%: films with the addition of 50% wheat straw
 995 nanofibrils; LDPE: low-density polyethylene; PA: polyamide; PVC: polyvinyl chloride.

996

997 **Table 3**

998 PCA-loading values

Variable	PC1	PC2
Thickness	0.27	0.94*
Opacity	-0.51	-0.85*
L*	0.98*	-0.11
C*	-0.97*	0.22
hue	-0.65	0.75*
Tensile Strength	-0.72	0.65*
Elongation	0.78	0.62*
Young Modulus	-0.89*	0.44
Puncture force	0.85*	-0.51
WVP	0.92*	0.10
Solubility	-0.34	0.31
Contact angle	-0.95*	0.20
Wettability	0.54	-0.04
Cobb value	0.87*	0.46
SFE	0.89*	0.42
SFE polar	0.76	0.60*
SFE disperse	0.79*	0.54
Polarity	0.80*	0.56

999

1 **ARTIGO 3: Aplicação de bionanocompósitos com coprodutos da indústria de aveia e**
2 **trigo como revestimento comestível na manutenção da qualidade pós-colheita de**
3 **morangos sob armazenamento refrigerado**

4
5 *Artigo elaborado segundo as normas da revista *Post-harvest Biology and Technology*

6
7 Rafael Carvalho do Lago, Elídio Maurício Zaidine Zitha, Ana Lázara Matos de Oliveira,
8 Danilo José Machado de Abreu, Elisângela Elena Nunes Carvalho, Roberta Hilsdorf Piccoli,
9 Gustavo Henrique Denzin Tonoli, Eduardo Valério de Barros Vilas Boas

10 **Resumo**

11 Foi avaliado o efeito da aplicação de bionanocompósitos a base de fécula de mandioca
12 reforçados com nanofibrilas celulósicas obtidas de palhas de aveia e trigo como revestimentos
13 comestíveis sobre a manutenção da qualidade pós-colheita de morangos ao longo do
14 armazenamento refrigerado. Os morangos revestidos foram comparados com morangos sem
15 revestimento armazenados em embalagem selada com poliamida e embalagem com tampa
16 rígida de polipropileno (controle). Os frutos foram armazenados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ e avaliados a cada
17 três dias, ao longo de 21 dias, em relação à modificação atmosférica, taxa respiratória, perda
18 de massa, pH, acidez titulável, sólidos solúveis, açúcares redutores, coloração, firmeza,
19 enzimas da parede celular, atividade antioxidante, perfil de fenólicos e crescimento
20 microbiológico. As propriedades de barreira dos revestimentos utilizados promoveram
21 redução na taxa respiratória e metabolismo dos frutos, influenciando no retardo e
22 minimização de eventos relacionados à senescência, como degradação de sólidos solúveis e
23 ácidos orgânicos, escurecimento dos tecidos, síntese de antocianinas, atividade de enzimas de
24 amaciamento, diminuição de compostos com atividade antioxidante, síntese de vanilina e
25 resveratrol e crescimento de fungos. Comprovou-se a efetividade de bionanocompósitos a
26 base de fécula de mandioca reforçados com nanofibrilas celulósicas obtidas de palhas de aveia
27 e trigo como revestimentos comestíveis capazes de manter a qualidade de morangos sob
28 armazenamento refrigerado, sendo mais uma alternativa biodegradável às embalagens
29 convencionais utilizadas na pós-colheita de frutas e hortaliças.

30 Palavras-chave: *Fragaria x ananassa* Duch.; enzimas de amaciamento; *Browning Index*;
31 resveratrol; vanilina; crescimento de fungos.

32 1 Introdução

33 O morango (*Fragaria x ananassa*) é um fruto altamente consumido e apreciado,
34 devido às suas características sensoriais e apelo nutricional, sendo fonte de vitamina C,
35 aminoácidos e compostos com atividade antioxidante (Battino et al., 2019; Mazzoni et al.,
36 2020; Miller et al., 2019). Dentre as pequenas frutas é a segunda mais produzida, ficando atrás
37 somente da uva (Bodelón et al., 2013; Kumar et al., 2014). Dados da *Food and Agriculture*
38 *Organization of the United Nations* (FAO, 2021) apontaram para uma produção mundial total
39 de 8.885.028 toneladas, no ano de 2019.

40 Apesar de todo o apelo nutricional e comercial, morangos tendem a apresentar sérios
41 problemas pós-colheita, exibindo vida útil reduzida e rápida deterioração no armazenamento;
42 a manutenção da qualidade pós-colheita desses frutos tem sido um grande desafio para os
43 pesquisadores (Lu et al., 2018). Por se tratar de um fruto não-climatérico, o morango é
44 colhido durante o amadurecimento, etapa final da maturação, período de intensa atividade
45 metabólica; isso, aliado ao seu tecido extremamente fino, aumenta a propensão ao ataque de
46 microrganismos, amolecimento e, conseqüentemente, injúrias físicas, dentre outros eventos
47 envolvidos na senescência e deterioração pós-colheita de morangos (Feliziani and Romanazzi,
48 2016; Paniagua et al., 2017; Panou et al., 2019; Petrasch et al., 2019; Posé et al., 2011).

49 . A refrigeração adequada de morangos, entre 0 °C – 4 °C, permite estender sua vida
50 útil em alguns dias, ou mesmo semanas (Gol et al., 2013; Perdonés et al., 2012). Entretanto,
51 deve ser combinada com uma ou mais técnicas de preservação, a fim de otimizar seus efeitos
52 sobre a preservação da qualidade dos frutos. Embalagens que promovem modificação
53 atmosférica são importantes aliadas da refrigeração no prolongamento da vida útil e
54 manutenção da qualidade de morangos (Giannoglou et al., 2021; Nasrin et al., 2017; Peretto et
55 al., 2014). Não obstante, o uso de materiais de base petrolífera como embalagens tem sido
56 desencorajado, devido aos impactos causados ao meio ambiente (Nascimento et al., 2018;
57 Nechyporchuk et al., 2016), o que estimula cada vez mais os estudos envolvendo a aplicação
58 de materiais de base biodegradável na pós-colheita de frutas e hortaliças (Han et al., 2018;
59 Khalil et al., 2018; Mohamed et al., 2020; Tahir et al., 2019). Esse tipo de material costuma
60 ser elaborado com matérias primas de baixo custo e não escassas, como proteínas, lipídeos e
61 polissacarídeos (Galgano et al., 2015; Kwak et al., 2021; Rhim et al., 2013)

62 Em relação às aplicações em morangos, os polissacarídeos se destacam, sendo que a
63 maior parte dos estudos se concentra em biopolímeros à base de quitosana (Gol et al., 2013;

64 Luksiene and Buchovec, 2019; Muley and Singhal, 2020; Perdones et al., 2012; Resende et
65 al., 2018; Tavares et al., 2019; Wang et al., 2020), ainda que uma parcela considerável das
66 pesquisas também envolva a utilização de biopolímeros à base de amido (Garcia et al., 2012;
67 Pinzon et al., 2020; Thomas et al., 2016).

68 O amido é um polissacarídeo de ampla ocorrência na natureza, podendo ser extraído
69 de diversas fontes, sob baixo custo de produção (López-Córdoba et al., 2017; Owi et al.,
70 2019; Pelissari et al., 2018, 2017). Biocompósitos à base de amido apresentam boas
71 propriedades de barreira a gases no *headspace* (Sharma et al., 2019; Thakur et al., 2019),
72 sendo, portanto, efetivos na promoção de atmosfera modificada para a conservação de frutos,
73 sobretudo aqueles com intensa taxa respiratória, como os morangos. Entretanto, tendem a
74 exibir propriedades mecânicas fracas, além de alta hidrofiliabilidade (Seligra et al., 2016; Thakur
75 et al., 2019), o que pode limitar seu uso como revestimento comestível em morangos, devido
76 à alta umidade e atividade de água apresentada pelos frutos. Alternativas que combinem dois
77 ou mais materiais, com propriedades distintas, parecem atenuar o problema. Um exemplo é o
78 uso de nanofibrilas celulósicas, que atuam comprovadamente no incremento das
79 propriedades mecânicas e na diminuição da hidrofiliabilidade de biopolímeros (Rajinipriya et al.,
80 2018; Xu et al., 2020); em adição, as nanofibrilas celulósicas também são extraídas de
81 fontes renováveis, indo ao encontro do conceito de sustentabilidade.

82 Em estudos prévios de nosso grupo de pesquisa (Lago et al., 2021, 2020), a inserção
83 de nanofibrilas celulósicas obtidas a partir de palhas de aveia e trigo em bionanocompósitos à
84 base de amido de mandioca diminuiu a hidrofiliabilidade dos materiais e melhorou suas
85 propriedades mecânicas, pelo incremento da rigidez, aumentando seu potencial para aplicação
86 como revestimento comestível.

87 Sendo assim, objetivou-se com esse estudo avaliar o efeito da aplicação de
88 revestimentos biodegradáveis a base de amido de mandioca reforçados com nanofibrilas
89 celulósicas de palhas de aveia e trigo sobre a qualidade de morangos ao longo do
90 armazenamento refrigerado, a fim de expandir as alternativas biodegradáveis para a
91 conservação pós-colheita desses frutos.

92 **2 Material e métodos**

93 **2.1 Aquisição da matéria prima**

94 O amido de mandioca utilizado para o preparo dos bionanocompósitos foi adquirido
95 no comércio local de Lavras, MG, Brasil. A solução de sorbitol foi adquirida de Dinâmica®,
96 Piracicaba, SP, Brasil. As palhas de aveia e trigo utilizadas para o preparo das nanofibrilas
97 foram cedidas pela SL Alimentos/LTDA e pela EPAMIG/Fazenda experimental de Lavras,
98 MG, Brasil, respectivamente. Para a realização do experimento foram utilizados morangos
99 cv. 'San Andreas' recém-colhidos, no estágio de maturação $\frac{3}{4}$ (75% vermelho). Os frutos
100 foram adquiridos da unidade produtora AP Frutas & Verduras®, localizada no município de
101 Bom Repouso-MG, Brasil. No ato da colheita, os frutos foram selecionados quanto ao
102 tamanho, estágio de maturação e ausência de defeitos. Os frutos foram colhidos com o
103 pedúnculo. A colheita se deu pela manhã. As embalagens de poliamida foram cedidas pela AP
104 Frutas & Verduras®. Já as embalagens de polipropileno (20 μm) foram adquiridas de
105 fornecedores padrão.

106 **2.2 Preparação das soluções filmogênicas**

107 As soluções filmogênicas foram preparadas segundo Guimarães et al. (2015). Em
108 resumo, solução de 3% (m/v) de fécula de mandioca em água destilada, previamente hidratada
109 por 24h, contendo 30% (em relação à massa da fécula) de sorbitol, foi submetida à
110 gelatinização a 80°C, por 20 min., sob agitação (750 rpm). A partir da solução gelatinizada de
111 fécula de mandioca, foram preparadas duas diferentes soluções: uma com adição de 50%
112 (m/m) de nanofibrilas celulósicas de palha de aveia e outra com 30% de adição (m/m) de
113 nanofibrilas celulósicas de palha de trigo. As concentrações de nanofibrilas foram definidas
114 com base em estudos prévios de propriedades mecânicas e de barreira, sendo estas as
115 concentrações que obtiveram os melhores desempenhos (Lago et al., 2021, 2020). A obtenção
116 das nanofibrilas deu-se por tratamento alcalino com NaOH e posterior desfibrilação em
117 microfibrilador, conforme Lago et al. (2021, 2020).

118 **2.3 Revestimento dos frutos**

119 Uma vez colhidos, os morangos foram imediatamente levados, em transporte
120 refrigerado, para a Planta Piloto de Processamento Mínimo de Vegetais do Departamento de
121 Ciência dos Alimentos (DCA) da Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Lavras-MG.
122 Inicialmente foi realizada a sanitização dos frutos, com solução de hipoclorito de sódio (50
123 ppm) por 15 min. Os frutos foram drenados à temperatura ambiente e, então, divididos em
124 quatro grupos, de acordo com os tratamentos (Fig. (1 d)): frutos revestidos com solução à
125 base de fécula de mandioca e nanofibrilas de palha de aveia (ECOSN); frutos revestidos com

126 solução a base de fécula de mandioca e nanofibrilas de palha de trigo (ECWSN); frutos sem
127 revestimento acondicionados em embalagem selada de poliamida (PA) e frutos controle,
128 aqueles sem revestimento acondicionados em embalagem rígida de polipropileno, com tampa
129 de encaixe. Assim como os frutos controle, os revestidos foram acondicionados em
130 embalagem de polipropileno. Essa embalagem foi considerada como controle por não exercer
131 barreira a permeação a gases no *headspace*, não promovendo, portanto, modificação
132 atmosférica.

133 O revestimento dos frutos deu-se por imersão. Os morangos eram imersos por 1 min.
134 na solução filmogênica e, em seguida, drenados até que a completa secagem da solução
135 (aprox. 6h), a 18°C e 75% U.R, sendo pendurados pelo pedúnculo, a fim de evitar contato
136 com superfície e consequente perda localizada do revestimento (Fig. (1 a)). Os frutos dos
137 demais tratamentos foram imersos em água e mantidos sob as mesmas condições que os
138 frutos revestidos. Em seguida, os frutos foram acondicionados em embalagens de
139 polipropileno de 3,5 x 11,5 x 15 cm, e armazenados em câmara fria a 2±1°C e 90±5% U.R. As
140 análises foram realizadas a cada 3 dias, pelo período de 21 dias.

141 < Fig. (1) >

142 **2.4 Delineamento experimental**

143 Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com fatorial 4 x 8,
144 sendo quatro níveis do fator embalagem (ECOSN, ECWSN, PA e controle) e oito níveis do
145 fator tempo de avaliação (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 e 21 dias), em três repetições. Cada repetição
146 era constituída de três embalagens com 100g de morangos cada.

147 **2.5 Análises**

148 As determinações de perda de massa, firmeza, avaliação microestrutural, taxa
149 respiratória, CO₂ no *heaspace*, coloração, pH, sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT),
150 microbiológicas e a contabilização dos frutos inaptos para consumo foram realizadas nos
151 frutos frescos. As demais análises foram realizadas nos frutos previamente homogeneizados e
152 congelados em N₂ líquido e armazenados em freezer a -80°C.

153 **2.5.1 Taxa respiratória, CO₂ no *headspace* e perda de massa**

154 O teor de CO₂ foi avaliado com auxílio do analisador de gases PBI Dansensor
155 Checkpoint 9900 (PBI-Dansensor A / S, Ringsted, Dinamarca). Para o monitoramento do teor
156 de CO₂ no interior das embalagens, a sonda era inserida na tampa/revestimento das

157 embalagens, antes da abertura, e o valor de CO₂ produzido era obtido, em porcentagem. Para a
 158 taxa respiratória, amostras de frutos de cada repetição (em torno de 100 g) eram
 159 acondicionadas em frascos de vidro de 500 mL, hermeticamente fechados, mantidos na
 160 câmara fria, sob as mesmas condições de armazenamento, e as leituras eram realizadas após o
 161 período de três horas. Os resultados foram expressos em mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹.

162 A perda de massa dos frutos ao longo do tempo foi avaliada por meio de pesagem em
 163 balança analítica, considerando o peso inicial dos frutos (tempo 0) e o peso dos frutos no
 164 tempo de armazenamento avaliado (Eq. (1)). Embalagens exclusivas para a análise foram
 165 utilizadas, sendo pesadas sempre as mesmas amostras, a cada tempo de avaliação.

$$166 \text{ Perda de massa (\%)} = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

167 Eq. (1)

168 Em que: *P_i*: peso inicial (tempo 0); e *P_f*: peso final (correspondente a cada tempo de
 169 armazenamento avaliado).

170 **2.5.2 pH, AT e SS**

171 A acidez titulável dos frutos foi determinada por titulação com solução de NaOH
 172 0.1M, utilizando como indicador a fenolftaleína; o pH foi medido em potenciômetro (Tecnal
 173 TEC-3MP) e o teor de sólidos solúveis foi determinado por refratometria em refratômetro
 174 digital (Atago PAL-1, Tokyo, Japan) (AOAC INTERNATIONAL, 2016).

175 **2.5.3 Parâmetros de coloração**

176 A análise de coloração dos morangos foi realizada com auxílio do colorímetro Konica
 177 Minolta CR-400, iluminante D65, com determinação das variáveis L*, a*, b*, Cromo (C*) e
 178 ângulo hue. As leituras foram realizadas em pontos distintos da região equatorial dos frutos.
 179 Os valores de a* e b* foram utilizados para o cálculo do índice de escurecimento, ou
 180 *browning index* (BI), conforme Eq.(3) e Eq.(4) (Muley and Singhal, 2020).

$$181 \text{ BI} = \frac{100 \times (x - 0.31)}{0.172}$$

182 Eq. (3)

$$183 \text{ x} = \frac{a^* + 1.75 \times L^*}{5.645 \times L^* + a^* - 3.021 \times b^*}$$

Eq. (4)

184

185 O teor de antocianinas foi determinado segundo Barcia et al. (2012), baseando-se no
186 coeficiente de extinção molar da cianidina-3-glicosídeo. Cinco gramas de tecido congelado
187 dos frutos foram mixados com 50 mL de etanol acidificado (pH = 1.0). Após incubação a 1h
188 em ambiente escuro, a solução foi filtrada e procedeu-se a leitura em leitor de microplacas
189 (EZ Read 2000) a 535 nm. Os resultados foram expressos em mg 100 g⁻¹.

190 **2.5.4 Parâmetros de firmeza**

191 A firmeza dos frutos foi avaliada por teste de punctura, com auxílio de penetrômetro
192 Magness – Taylor, utilizando sonda de 5mm de diâmetro. A punctura foi realizada na região
193 equatorial dos frutos e os resultados expressos em N.

194 Foram avaliadas as atividades das enzimas de amaciamento poligalacturonase (PG),
195 pectinametilesterase (PME), β -galactosidase (β -gal) e celulase (Cx). Para tanto, um extrato
196 enzimático foi preparado, segundo Wang et al. (2020). Oito gramas do tecido congelado
197 foram mixados com 8 mL de tampão Tris-HCl 50 mmol L⁻¹ (pH= 7.0), sendo submetidos à
198 centrifugação (12,000 x g, 4°C) por 30 minutos. O sobrenadante (extrato bruto) foi recolhido e
199 armazenado à 4°C, até a realização das análises. O teor de proteína do extrato enzimático foi
200 determinado segundo técnica de Bradford (1976). A atividade enzimática, para as quatro
201 enzimas, foi expressa em U g de proteína⁻¹ h⁻¹. A unidade de atividade enzimática (U) foi
202 definida como a quantidade de enzima capaz de liberar 1 μ mol de ácido galacturônico (PG),
203 grupos carboxílicos (PME), nitrofenol (β -gal.) ou açúcares redutores (Cx). As leituras foram
204 realizadas em leitor de microplacas (EZ Read 2000), em triplicata.

205 Para a determinação de PG, utilizou-se metodologia de Wang et al. (2020), com
206 mínimas modificações. Alíquotas de 0,5mL de extrato bruto foram combinadas com 1,0mL
207 de tampão acetato 50mmol L⁻¹ (pH= 5,5) contendo 0,5% (p/v) de ácido poligalacturônico,
208 como substrato. Um controle foi feito para cada amostra, utilizando-se tampão acetato isento
209 de substrato. Após incubação a 37°C por 1h, foram adicionados às misturas 1,5 mL de solução
210 DNS (1% 3,5 ácido dinitrosalicílico e 30% de tartarato de sódio e potássio em 0,4 mol L⁻¹ de
211 NaOH). A reação foi interrompida pela adição dos tubos em banho maria fervente, por 5 min.,
212 após o período de incubação. Após arrefecimento em temperatura ambiente, foram
213 adicionados aos tubos 25 mL de água destilada e realizada as leituras a 540 nm.

214 A atividade de PME foi determinada conforme Verma et al. (2015). Quinze mililitros
 215 de solução de NaCl 0.15 M contendo 0,25% (m/v) de pectina cítrica foram adicionados a 200
 216 μ L do extrato enzimático. O volume foi completado para 30 mL com água destilada e o pH
 217 ajustado a 8.0 com NaOH 0.1M. Após incubação a 30°C por 1 h, as soluções foram tituladas
 218 com NaOH 0.1 M até viragem de cor, utilizando como indicador a fenolftaleína. O volume de
 219 NaOH utilizado na titulação foi anotado e utilizado para o cálculo, conforme a Eq.(5).

$$220 \text{ PME (unidades mL}^{-1}\text{)} = \frac{(\text{mL NaOH}) \times (\text{molaridade NaOH}) \times (1000)}{(\text{tempo (h)}) \times (\text{volume amostra(mL)})}$$

221 Eq.(5)

222 A atividade da β -gal foi determinada segundo Wang et al. (2020) Um mililitro de
 223 tampão acetato (pH = 5.5) contendo 0.5% (m/v) de p-nitrofenil- β -D galactopiranosídeo foi
 224 adicionado a 1mL do extrato enzimático. Após incubação a 37°C por 30 min., a reação foi
 225 interrompida com a adição de solução de Na_2CO_3 0.2 mol L⁻¹. A absorbância das soluções foi
 226 medida a 400 nm.

227 Por fim, a atividade de Cx foi determinada combinando 1,5 mL de solução de
 228 carboximetilcelulose de sódio (CMC) (10 g L⁻¹ em tampão acetato (pH = 5.5)) e 0,5 mL do
 229 extrato enzimático. O procedimento adotado foi o mesmo que para a determinação de PG,
 230 utilizando DNS (Wang et al., 2020). Nesse caso, o controle consistia em 0,5 mL de extrato
 231 enzimático submetido a banho maria fervente por 5 min.

232 Para o preparo dos extratos para a determinação do teor de pectina solúvel seguiu-se o
 233 método proposto por McCready and McComb (1952). Em resumo, 5 g do tecido congelado
 234 foram mixados com 45 mL de etanol 95% (m/v) e submetidos a agitação por 1 h. Após
 235 repouso *overnight*, o conteúdo foi filtrado em papel filtro e lavado com 2 x de 50 mL de
 236 etanol 95% (m/v). O resíduo das filtragens foi combinado com 50 mL de água destilada,
 237 agitado novamente, por 1 h e filtrado, constituindo o extrato. O teor de pectina solúvel foi
 238 determinado segundo a técnica de Blumenkrantz and Asboe-Hansen (1973). Em tubos
 239 contendo 1 mL de extrato, foram adicionados 3 mL de solução de ácido sulfúrico/tetraborato
 240 de sódio (0.125 M), em banho de gelo. Após 10 min. de fervura em banho-maria e posterior
 241 arrefecimento em banho de gelo, foram adicionados 100 μ L de carbazol e os tubos foram
 242 levados novamente a banho-maria fervente, por 15 min. Após arrefecimento em banho de
 243 gelo, procedeu-se a leitura, a 530 nm.

244 Para análise microestrutural, amostras dos tecidos dos morangos eram retiradas, em
245 cada tempo de avaliação, com auxílio de lâminas, e inseridas em microtubos contendo fixador
246 Karnovsky modificado, sendo mantidas até o momento do preparo das amostras. Para o
247 preparo dos espécimes, as amostras foram fraturadas em nitrogênio líquido e submetidas à
248 desidratação em gradiente de acetona, seguida pela secagem em aparelho de ponto Crítico
249 (Bal-Tec). Em seguida, os espécimes foram montados em stubs, submetidos à metalização em
250 aparelho evaporador de ouro (Sputtering) (Bal-Tec) e observados em microscópio eletrônico
251 de varredura (MEV) LEO EVO 40 XVP, no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise
252 Ultra-estrutural (LME), do Departamento de Fitopatologia, da UFLA. Imagens obtidas nos
253 tempos de avaliação 0, 12 e 21 dias foram utilizadas.

254 **2.5.5 Ácido ascórbico, fenólicos totais, perfil de fenólicos e atividade antioxidante**

255 O teor de ácido ascórbico dos morangos foi determinado segundo Muley and Singhal
256 (2020), com mínimas modificações. Cinco gramas de tecido congelado foram mixados com
257 20 mL de solução de ácido metafosfórico a 2% (m/v). Após centrifugação por 8 min. a 4°C e
258 7,195 x g, removeu-se o sobrenadante, considerado o extrato. Cem microlitros do extrato
259 foram combinados com 186 µL de corante 2,6-di-clorofenol indofenol (DFI) a 0,1% (m/v) e,
260 após 3 min. de incubação em ambiente escuro, foi realizada a leitura a 518 nm. Os resultados
261 foram comparados com uma curva analítica de ácido ascórbico (20 µg -100 µg) e expressos
262 em mg ácido ascórbico 100 g⁻¹.

263 Os extratos para a determinação de fenólicos totais e atividade antioxidante foram
264 preparados segundo Zitha et al. (2021), com algumas modificações. Em resumo, 2,5g de
265 tecido congelado dos frutos foram mixados com 10 mL de metanol 50% (v/v) e submetidos a
266 banho ultrassônico (4°C, por 1 h.). Em seguida, a solução foi centrifugada a 25,400 x g, por
267 15 min. a 4°C. O sobrenadante foi reservado e o resíduo re-extraído com 10 mL de acetona
268 70% (v/v), sob as mesmas condições. No final do processo, os sobrenadantes resultantes das
269 duas extrações foram combinados, constituindo o extrato.

270 Para a determinação de fenólicos totais, foi utilizado o método de Fast blue (Medina,
271 2011). Em resumo, 20 µL de sal de diazônio Fast Blue 0,01% (m/v) foram adicionados a 200
272 µL do extrato, em microplacas. Após a adição de mais 20 µL de NaOH 5%, as soluções foram
273 incubadas por 1 h em ambiente escuro. Em seguida, procedeu-se a leitura, a 420 nm. Os
274 resultados foram comparados com uma curva analítica de ácido gálico (20 µg – 400 µg) e
275 expressos em mg ácido gálico 100 g⁻¹.

276 O perfil de fenólicos dos morangos foi avaliado aos 0, 6, 12, 18 e 21 dias de
277 armazenamento. O preparo dos extratos para identificação de compostos fenólicos foi realizado
278 conforme Cunha et al. (2021). Em resumo, 2,5g de amostra foram mixados com 20 mL de
279 metanol grau HPLC 70% (v/v) e incubados durante 1 h em banho ultrassônico, à temperatura
280 ambiente. O extrato obtido foi centrifugado (25.406,55 x g, 4° C) durante 15 min. e
281 posteriormente filtrado em papel de filtro com porosidade 14µm. Para a injeção das amostras,
282 os extratos foram novamente filtrados utilizando-se filtros de membrana porosa com 0,45 µm.
283 A quantificação e identificação dos compostos fenólicos foram realizadas em cromatógrafo
284 líquido de alta eficiência (HPLC-DAD/UV-Vis) modelo Shimadzu (Shimadzu Corporation,
285 Kyoto, Japão) equipado com quatro bombas de alta pressão (modelo LC-20AT), com um
286 detector de arranjo de diodos (modelo SPD-M20A), degaseificador (modelo DGU-20A5),
287 interface de CBM-20A, forno CTO-20AC e amostrador automático (modelo SIL-20A). As
288 separações foram realizadas usando uma coluna Shimadzu Shim-pack ODS GVP-C18 (4,6 x
289 250 mm, 5 mm) ligada a uma pré-coluna (Shimadzu-pack ODS GVP-C18, 4,6 x 10 mm, 5µm).
290 A fase móvel consistiu de 2% (v/v) de ácido acético em água deionizada (Fase móvel A) e
291 70:28:2 (v/v) de metanol/água/ácido acético (Fase móvel B), a uma taxa de fluxo de 1,0
292 mL.min⁻¹ com um programa de eluição de gradiente e tempo de execução de 65 minutos. O
293 volume de injeção foi de 20 µL. As análises foram realizadas a 15°C. Os compostos fenólicos
294 foram detectados a 280 nm. As soluções padrão foram diluídas em metanol e as curvas de
295 calibração foram obtidas a partir de injeções de dez concentrações diferentes, em duplicata. Os
296 compostos fenólicos foram identificados por comparação dos tempos de retenção com os
297 padrões (ácido gálico, catequina, ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido ferulico, vanilina,
298 ácido tans-cinâmico, ácido m-cumárico, ácido p-cumárico, ácido o-cumárico e resveratrol). Os
299 resultados foram expressos em mg do composto fenólico 100g⁻¹ da amostra.

300 A atividade antioxidante dos morangos foi avaliada por três metodologias distintas,
301 Sistema β-caroteno/ácido linoleico (Zitha et al., 2021), *Ferric reducing antioxidant power*
302 (FRAP) (Jiao et al., 2019) e ABTS (Zitha et al., 2021), com mínimas modificações.

303 Para o sistema β-caroteno/ácido linoleico, 50 µL de solução de β-caroteno/clorofórmio
304 (1mg mL⁻¹) foram combinados com 40 µL de ácido linoleico e 530 µL de Tween 40, sendo
305 dissolvidos em 1 mL de clorofórmio. Em seguida, o clorofórmio foi totalmente removido da
306 solução, sendo evaporado em oxigenador, e a mistura resultante foi diluída em água
307 oxigenada até absorvância de 0,6 – 0,7 a 470 nm, obtendo-se a solução sistema de β-
308 caroteno/ácido linoleico. Em seguida, alíquotas de 270 µL da solução sistema foram

309 adicionadas em microplacas contendo 20 μL dos extratos antioxidantes das amostras, sendo
 310 realizada a leitura, a 470 nm, obtendo-se os valores de absorvância inicial (*Abs. Inicial*). Após
 311 incubação por 2 h em banho maria a 40 °C, foi realizada a segunda leitura, com a obtenção
 312 dos valores de absorvância final (*Abs. Final*). A % de inibição da descoloração do sistema β -
 313 caroteno (%proteção) foi então calculada segundo a Eq. (6) e Eq. (7).

$$314 \quad \% \text{ oxidação} = \frac{(Abs. inicial - Abs. final) amostra \times 100}{(Abs. inicial - Abs. final) sistema}$$

315 Eq. (6)

$$316 \quad \% \text{ proteção} = 100 - (\% \text{ oxidação})$$

317 Eq. (7)

318 Para a avaliação da atividade antioxidante pelo método de FRAP, alíquotas de 9 μL de
 319 extratos antioxidantes das amostras foram combinadas com 27 μL de água destilada e 264 μL
 320 de solução FRAP (contendo TPTZ, cloreto férrico e tampão acetato). Após incubação em
 321 banho maria a 37 °C por 30 min., a leitura das absorvâncias das amostras foi realizada a 595
 322 nm. Os resultados foram calculados com base em uma curva analítica de sulfato ferroso
 323 (FeSO_4) (500 μM a 2000 μM) e expressos em μM de sulfato ferroso (FeSO_4) g^{-1} .

324 Já para a determinação da atividade antioxidante pelo método de ABTS, a solução de
 325 radical ($\text{ABTS}^{\bullet+}$) foi preparada combinando 7mM de persulfato de potássio e 2.5 mM de
 326 solução ABTS, sendo a mistura mantida em repouso por 16 h, em ambiente escuro e
 327 temperatura ambiente. Após esse período, a mistura de radical foi diluída em etanol, até
 328 absorvância de 0.70 ± 0.05 , a 734 nm. Alíquotas de 297 μL da solução radical foram
 329 combinadas com 3 μL de extrato antioxidante das amostras e, após 6 min. de reação, foi
 330 realizada a leitura a 734 nm. Os resultados foram comparados a uma curva analítica de trolox
 331 (0 μM – 200 μM) e expressos em μM de equivalente trolox (ET) g^{-1} .

332 Os ensaios foram conduzidos em triplicada e as leituras realizadas em leitor de
 333 microplacas (EZ Read 2000).

334 **2.5.6 Deterioração dos frutos**

335 A avaliação da deterioração dos frutos ao longo do tempo foi realiza por meio de
 336 análises microbiológicas (*Salmonella* sp., coliformes totais e fungos) e determinação visual de
 337 frutos inaptos para consumo.

338 A presença de *Salmonella* sp. Foi verificada segundo o método
339 MLG/FSIS/USDA:2017 (United States Department of Agriculture (USDA), 2017). Em
340 resumo, 2.5 g de amostra foram pesados e adicionados a erlenmeyers contendo 225 ml de
341 água tamponada, sendo incubados, a 37 °C, por 18 h. Posteriormente, foi realizado o
342 enriquecimento da amostra utilizando-se os caldos tetratonato e rapaport, com incubação, a
343 37 °C, por 24 h. O plaqueamento foi realizado em meio Hektoen Enteric Agar, seguido de
344 incubação a 37 °C, por 24 h. Colônias suspeitas foram isoladas e transferidas para tubos
345 contendo ágar ferro tríplice açúcar (TSI) e ágar lisina de ferro (LIA), sendo incubados, a 37
346 °C, por 24 h e, posteriormente, submetidos a provas bioquímicas.

347 Para a contagem de coliformes totais, foi utilizado o método do número mais provável
348 (NMP) 9:2015 (Kornacki et al., 2015). Em resumo, alíquotas das amostras diluídas em água
349 tamponada eram inseridas em tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), em
350 diluição seriada e incubadas a 35 °C, por 48 h. Após esse período, tubos contendo
351 crescimento e produção de gás eram submetidos ao teste confirmativo de coliformes totais, a
352 saber: alçadas dos tubos contendo LST eram inseridas em tubos contendo Caldo Verde
353 Brilhante 2% (VB) e incubadas a 35 °C, por 48 h. Após esse período, os tubos com
354 crescimento e produção de gás eram considerados positivos para coliformes totais, sendo
355 submetidos à contagem do NMP e os resultados expressos em NMP g⁻¹.

356 A análise de fungos correspondeu à contagem de bolores e leveduras, determinada
357 segundo o método de plaqueamento APHA 21:2015, com contagem das unidades formadoras
358 de colônia (UFC) (Ryu and Wolf-Hall, 2015). Alíquotas de diluições seriadas das amostras
359 homogêneas em água tamponada eram submetidas a plaqueamento em superfície com
360 meio de cultura ágar dicloran rosa de bengala cloranfenicol (DRBC). Após incubação a 25 °C
361 por 5 dias, foram mensurados os números de colônias típicas de bolores e colônias típicas de
362 leveduras (após confirmação microscópica da morfologia das células), sendo a somatória
363 considerada como contagem total e bolores e leveduras e expressa em log UFC g⁻¹.

364 A cada tempo de avaliação, era contabilizada também a porcentagem de frutos inaptos
365 para consumo, considerando a relação entre o número total de frutos e o número de frutos
366 com algum tipo de alteração visível (Eq. (8)). Foram consideradas como alterações a presença
367 de áreas acastanhadas, áreas amolecidas e crescimento visível de micélios de fungos (Fig. (1
368 c)).

$$369 \quad \text{Frutos inaptos (\%)} = \frac{Tf - If}{Tf} \times 100$$

370 Eq.(2)

371 Em que: *Tf*: número total de frutos; e *If*: número de frutos com alterações visíveis.

372 **2.6 Análise estatística**

373 Os dados obtidos foram analisados utilizando teste de médias de Scott Knott ($p <$
374 0.05), regressão polinomial, análise de componentes principais (PCA), clusterização
375 hierárquica e análise de correlação de Pearson, utilizando o software estatístico R Studio
376 (RStudio Team, 2015).

377 **3 Resultados**

378 Após o período de secagem da solução filmogênica, pode-se observar que os
379 revestimentos aderiram bem aos frutos, não havendo a presença de regiões não revestidas.
380 Alterações visuais entre os frutos revestidos e os não revestidos não foram notadas (Fig. (1
381 b)).

382 < Fig. (1) >

383 As variáveis estudadas foram influenciadas pelos fatores revestimento e tempo de
384 armazenamento de forma isolada, quando utilizou-se gráficos com teste de médias ou
385 regressão com uma única curva, respectivamente. No caso de interação significativa entre os
386 fatores, os resultados foram apresentados em gráficos que mesclam teste de médias com
387 curvas de regressão.

388 **3.1 Taxa respiratória, CO₂ no *headspace* e perda de massa**

389 A atividade respiratória dos morangos oscilou em torno de 20 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, nos 18
390 primeiros dias de armazenamento, elevando-se a partir de então até 45 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, aos
391 21 dias (Fig. (2 a)). Morangos ECOSN e ECWSN exibiram menor taxa respiratória em
392 relação ao controle e PA.

393 Observou-se maior acúmulo de CO₂ nas embalagens de PA, em comparação às
394 demais, ao longo do armazenamento (Fig. (2 b)). Os níveis de CO₂ nas embalagens PA
395 ultrapassaram 1%, embora não tenham ultrapassado 0,3% nas embalagens de polipropileno, a
396 despeito do revestimento dos frutos.

397 Observou-se, independentemente dos tratamentos, aumento na perda de massa dos
398 frutos, ao longo do armazenamento, que atingiu cerca de 1%, no 21º dia (Fig. (2 c)).

399 < Fig. (2) >

400 **3.2 pH, AT e SS**

401 O pH dos morangos oscilou pouco ao longo do armazenamento, entre 3,28 e 3,39 (Fig.
402 (3 b)). ECOSN e ECWSN apresentaram as menores médias de pH aos 0, 18 e 21 dias de
403 armazenamento, enquanto maior média de pH foi observada para ECOSN, no sexto dia de
404 armazenamento, nenhuma outra diferença sendo notada. Já a AT reduziu de 1,13 a
405 aproximadamente 0,95% durante os 21 dias de armazenamento, sendo que, em média,
406 ECOSN e ECWSN apresentaram as maiores médias (Fig. (3 a)).

407 O teor de sólidos solúveis teve influência da interação tempo x tratamento, conforme
408 observado na Fig. (3 c). Pequenas oscilações nas médias foram observadas, nos primeiros
409 tempos de armazenamento, a despeito do tratamento. Um ligeiro, porém significativo,
410 aumento no teor de sólidos solúveis foi observado para os morangos controle e PA, no último
411 dia de armazenamento. Já os frutos revestidos mantiveram a tendência à queda a partir do 12º
412 dia de armazenamento, sendo que morangos ECOSN apresentaram estabilização das médias a
413 partir do 15º dia, enquanto ECWSN apresentaram, ainda, duas quedas significativas, aos 18 e
414 21 dias de armazenamento. Apesar disso, os morangos revestidos exibiram as maiores médias,
415 na maioria dos tempos.

416 < Fig. (3) >

417 **3.3 Alterações na coloração**

418 Tendências de queda de L* e aumento de BI foram observadas ao longo do
419 armazenamento de morangos, a despeito dos tratamentos utilizados, embora menos
420 pronunciadas nos frutos ECOSN e ECWSN (Fig. (4 a, b)). Aumento de C*, seguido de queda,
421 foi observado nos morangos, sem efeito sistemático dos tratamentos sobre essa variável (Fig.
422 (4 c)). Tendência de queda em h° foi observada nos frutos ECOSN e ECWSN, durante os 21
423 dias de armazenamento, enquanto frutos C e PA apresentaram redução dessa variável, seguida
424 de elevação, no final do armazenamento. Frutos controle apresentaram menor h° que os
425 demais, do nono ao 15º dia de armazenamento (Fig. (4 d)). Os teores de antocianinas
426 aumentaram ao longo do armazenamento dos morangos, de forma mais pronunciada nos
427 morangos controle, seguidos por PA (Fig. (4 e)). ECOSN determinou menor aumento de

428 antocianinas que ECWSN, até o nono dia de armazenamento, não havendo mais diferenças
429 entre ambos tratamentos, dos 12 aos 21 dias.

430 < Fig. (4) >

431 **3.4 Alterações texturais**

432 Redução da firmeza e aumento da atividade das enzimas PG e Cx e do teor de pectina
433 solúvel foram observados nos morangos, ao longo de seu armazenamento, assim como
434 aumento da atividade da PME, dos 9 aos 12 dias, seguido de queda, até os 18 dias de
435 armazenamento (Fig. (5)). Em média, os frutos ECOSN e ECWSN apresentaram-se mais
436 firmes e com menor atividade de PG que os frutos controle e PA (Fig. (5a, b)).

437 Variações significativas na atividade de β -Gal. não foram notadas em função dos
438 fatores embalagem/revestimento e tempo de armazenamento, reportando-se uma média geral
439 de $0.008 \pm 0.001 \text{ U h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ proteína. Diferenças relativas aos teores de pectina solúvel entre os
440 tratamentos foram observadas apenas a partir do 15º dia de armazenamento (Fig. (5 d)). A
441 embalagem de PA e os revestimentos reduziram a solubilização pécica dos morangos aos 15
442 e 21 dias de armazenamento, enquanto ECOSN determinou a menor média aos 18 dias de
443 armazenamento.

444 < Fig. (5) >

445 A fim de ilustrar as alterações texturais dos morangos submetidos aos diferentes
446 tratamentos, micrografias obtidas em MEV aos 0, 12 e 21 dias de armazenamento são
447 apresentadas na Fig. (6). No início do experimento (dia 0) pode-se notar uma estrutura intacta,
448 com cavidades bem delimitadas, a despeito do tratamento. No 12º dia de armazenamento, é
449 possível notar ligeira diminuição na integridade da estrutura, com início de flacidez das
450 cavidades, mais pronunciada nos frutos controle e PA. Ao final do experimento (21º dia de
451 armazenamento), os frutos controle e PA apresentavam-se com a estrutura flácida, presença
452 de rugosidade e deformação nas cavidades, enquanto os frutos revestidos ainda apresentavam
453 parte da estrutura inicial, com cavidades bem preservadas. Ainda que os frutos revestidos com
454 ambos os bionanocompósitos apresentassem a parede celular mais estruturada em relação aos
455 demais tratamentos, ECOSN foram os que menos apresentaram danos estruturais ao longo do
456 armazenamento, mantendo estrutura semelhante ao tempo inicial.

457 < Fig. (6) >

458 **3.5 Ácido ascórbico, fenólicos totais, perfil de fenólicos e atividade antioxidante**

459 Reduções nos teores de ácido ascórbico e fenólicos totais, bem como na atividade
460 antioxidante medida pelos métodos FRAP e β -caroteno/ácido linoleico foram observadas
461 durante os 21 dias de armazenamento dos morangos (Fig. (7)). As embalagens/revestimentos
462 afetaram diferentemente apenas as variáveis ácido ascórbico, ABTS e FRAP. Morangos
463 ECOSN apresentaram as maiores médias dessas variáveis, enquanto PA, as menores. Frutos
464 controle apresentaram menores médias de ácido ascórbico, FRAP e ABTS que morangos
465 ECOSN e menores médias de ácido ascórbico e FRAP que ECWSN.

466 Dos 11 compostos fenólicos analisados, nove foram identificados nos morangos.
467 Desses, ácido gálico e resveratrol sofreram influência do tempo de armazenamento, enquanto
468 vanilina e resveratrol de embalagem/revestimento. Os teores dos demais compostos fenólicos
469 identificados não variaram em função dos fatores estudados, apresentando as seguintes
470 médias: catequina (787.65 ± 357.41 mg $100g^{-1}$), ácido clorogênico (64.93 ± 30 mg $100g^{-1}$),
471 ácido ferúlico (44.42 ± 7.33 mg $100g^{-1}$), ácido *p*-cumárico (7.91 ± 1.57 mg $100g^{-1}$), ácido *m*-
472 cumárico (78.62 ± 18.29 mg $100g^{-1}$) e ácido *o*-cumárico (5.40 ± 0.81 mg $100g^{-1}$). Queda no teor
473 de ácido gálico foi notada nos seis primeiros dias de armazenamento, seguida de elevação nos
474 próximos seis dias, com tendência de estabilização a partir daí (Fig. (7 c)). Já o resveratrol
475 apresentou tendência de aumento, durante os 21 dias de armazenamento (Fig. (7 e)), sendo a
476 maior média observada nos frutos controle. Morangos controle, seguidos dos PA, também
477 apresentaram a maior média de vanilina, em comparação aos frutos ECOSN e ECWSN (Fig.
478 (7 d)).

479 < Fig. (7) >

480 **3.6 Deterioração dos frutos**

481 A presença de *Salmonella* sp. foi descartada, enquanto a contagem de coliformes totais
482 foi menor que 2×10^{-3} , limite máximo considerado pela legislação vigente (BRASIL, 2001).
483 Os fatores embalagem/revestimento e tempo de armazenamento não influenciaram essas
484 variáveis.

485 A deterioração dos morangos ao longo do tempo representada pelo crescimento de
486 fungos e percentual de frutos inaptos para o consumo, sofreu efeito significativo da interação
487 tratamento x tempo (Fig. (8)). Houve aumento no crescimento de fungos, ao longo do
488 armazenamento, a despeito do tratamento, embora mais acentuado nos frutos controle e
489 menos acentuado nos frutos revestidos (Fig. (8 a)).

490 O comportamento apresentado para o crescimento de fungos é reforçado pelos
491 resultados de percentual de frutos inaptos para o consumo (Fig. (8 b)). Os morangos controle
492 já apresentavam frutos com deterioração visível aos 12 dias de armazenamento, enquanto as
493 primeiras deteriorações visuais só foram observadas aos 15 dias para os frutos PA e 18 dias
494 para os frutos revestidos. A porcentagem de frutos inaptos foi significativamente maior nos
495 morangos controle, a partir dos 15 dias de armazenamento. Menores médias de frutos inaptos,
496 aos 18 e 21 dias de armazenamento, foram observadas nos frutos ECOSN, comparados aos
497 frutos ECWSN e PA.

498 < Fig. (8) >

499 **3.8 PCA e correlação de Pearson**

500 A fim de resumir os principais resultados obtidos para as variáveis estudadas e
501 visualizar a interação entre elas, análise de componentes principais (PCA) (Fig. (9 a)),
502 clusterização hierárquica (Fig. (9 b)) e correlação de Pearson (Fig. (10)) foram aplicadas às
503 variáveis significativas.

504 < Fig. (9) >

505 < Tabela 1 >

506 < Fig. (10) >

507 Em relação ao gráfico de PCA, os dois componentes principais explicam 56,66% da
508 variação total dos dados. Os valores dos *loadings* (Tabela 1) indicam que as variáveis PG, Cx,
509 L*, ML, TA, antocianinas, MY, resveratrol, SP, IF, hue, SS, BI, RR, ácido ascórbico e
510 firmeza foram responsáveis pelas variações no componente principal (PC) 1, ao passo que as
511 variáveis vanilina, C*, BI, AA ABTS, ML, IF, ácido ascórbico, CO₂, Cx, SS, resveratrol e
512 FRAP respondem pelas variações no PC 2. A análise de clusterização hierárquica separou os
513 tratamentos em dois grandes grupos (*clusters*), sendo o primeiro correspondente aos
514 tratamentos revestidos nos tempos 0 e 3 e o segundo, correspondente aos demais tratamentos.
515 Dentro do segundo cluster, vários subgrupos são formados. Os morangos revestidos com
516 ECOSN e ECWSN foram separados em subgrupos, de acordo com o tempo de
517 armazenamento. Os subgrupos formados por esses tratamentos aos 6, 9, 12 e 15 dias de
518 armazenamento, juntamente com os tratamentos correspondentes ao primeiro cluster (tempos
519 0 e 3), ocupavam o primeiro quadrante (Q1) no gráfico de PCA e foram caracterizados pelos
520 maiores teores de SS, AT, ângulo hue, valor L*, ácido ascórbico e atividade antioxidante; as

521 correlações se tornavam mais fracas (tratamentos mais distantes dos vetores correspondentes)
522 à medida que se avançava o armazenamento. Os morangos revestidos nos últimos tempos de
523 armazenamento (tempos 18 e 21) formaram um subgrupo localizado no quarto quadrante
524 (Q4), caracterizado pelos parâmetros PG, MY, SP, resveratrol, Cx, RS, WL e IF. Dentro deste
525 mesmo subgrupo, ECOSN T18 se destacou, formando um outro subgrupo isolado, mais
526 distante dessas variáveis. Os tratamento controle e PA no tempo 0 formam um subgrupo
527 isolado, com fracas correlações entre as variáveis. Os tratamentos PA, nos tempos 3 ao 9 e
528 controle, no tempo 3, englobam o mesmo subgrupo, caracterizado pelos valores de C* e PME
529 (2º quadrante (Q2)). O 3º quadrante (Q3) é caracterizado pelas variáveis vanilina, CO₂, BI,
530 antocianinas e taxa respiratória, em que os tratamentos controle, nos tempos 6 ao 15 e PA, nos
531 tempos 12 e 15, formam um subgrupo. Já os tratamentos controle e PA nos tempos 18 e 21
532 englobam outro subgrupo, que apresenta correlações com as variáveis PG, MY, SP,
533 resveratrol, Cx, RS, WL e IF. Os tratamentos controle nos tempos 18 e 21 formam, ainda,
534 dois outros subgrupos distintos, indicando correlações ainda mais fortes com essas variáveis.

535 Considerando o gráfico de correlação, com exceção de CO₂, C* e PME, todas as
536 demais variáveis apresentaram correlações significativas entre si. Os comportamentos
537 observados no gráfico de correlação foram considerados para reforçar a discussão dos dados,
538 que será apresentada a seguir.

539 **4 Discussão**

540 **4.1 Taxa respiratória, CO₂ no *headspace* e perda de massa**

541 Embora o morango seja classificado como não-climatérico, aumentos na sua atividade
542 respiratória são relatados, já no fruto maduro (Tosetti et al., 2020), como observado no
543 presente trabalho. Segundo os autores citados, esse aumento está associado ao etileno, que
544 tem sua biossíntese elevada em estádios avançados de maturação desses frutos (Sánchez-
545 Sevilla et al., 2017). Revestimentos à base de amido são comprovadamente efetivos quanto à
546 barreira a gases no *headspace* (Sharma et al., 2019; Thakur et al., 2019) e a incorporação de
547 nanofibrilas tende a aumentar as propriedades de barreira, diminuindo a permeabilidade a
548 gases. Sendo assim, sugere-se que a menor taxa respiratória apresentada pelos frutos ECOSN
549 e ECWSN esteja ligada às propriedades de barreira dos revestimentos. Ao minimizarem a
550 permeação de O₂, os revestimentos têm o potencial de diminuir a atividade respiratória,
551 diretamente pela limitação do substrato respiratório O₂, ou indiretamente, pela redução da
552 síntese de etileno, fitormônio associado ao aumento da respiração. Ao diminuírem a atividade

553 respiratória, os revestimentos conspiram a favor do retardo da senescência dos morangos,
554 consequentemente, aumentando sua vida pós-colheita.

555 A embalagem de PA propiciou acúmulo de CO₂ cerca de 3 vezes superior à
556 embalagem de polipropileno. Na verdade, os baixos níveis de CO₂ observados nas
557 embalagens de polipropileno, a despeito dos morangos nelas acondicionados serem ou não
558 revestidos, se deve ao sistema de fechamento da embalagem, por encaixe. O encaixe da tampa
559 permite a permeação de gases respiratórias, com impactos mínimos sobre o acúmulo de CO₂.
560 Por outro lado, a embalagem de PA foi selada, restringindo as trocas gasosas à
561 permeabilidade do filme, sob as condições de armazenamento. Entretanto, mesmo na
562 embalagem de PA, o acúmulo de CO₂, pouco acima de 1%, é considerado baixo, com
563 pequeno potencial de impacto sobre a fisiologia do fruto (Zagory and Kader, 1988). A
564 pequena modificação atmosférica gerada pelo PA se deve à baixa temperatura sob a qual os
565 frutos foram armazenados, que foi suficiente para manter em baixa sua atividade respiratória,
566 resultando em pequeno acúmulo de CO₂ no *headspace*.

567 A perda de massa durante o armazenamento de morangos é frequentemente reportada;
568 esses frutos são altamente suscetíveis à perda rápida de água, devido a sua casca
569 extremamente fina, que confere baixa barreira ao vapor d'água (Luksiene and Buchovec,
570 2019). Não obstante, a perda de massa média dos frutos chegou a aproximadamente 1%, no
571 21º dia de armazenamento. Perdas de massa de morangos bem acima desse valor têm sido
572 reportadas, variando de 16% a 40% em morangos com diferentes tipos de revestimentos,
573 podendo chegar a 50% em frutos não revestidos armazenados por 8 a 15 dias à 5°C (Muley
574 and Singhal, 2020; Treviño-Garza et al., 2015) ou 7 dias à 24°C (Kwak et al., 2021). Os
575 valores substancialmente inferiores de perda de massa observados no presente trabalho podem
576 ser associados à menor temperatura de armazenamento empregada ($2 \pm 1^\circ\text{C}$), bem como à alta
577 umidade relativa do armazenamento ($95 \pm 2\%$). Visto que a perda de massa é um reflexo da
578 taxa respiratória e a evaporação da umidade entre o tecido da fruta e o ar circundante (Jiang et
579 al., 2020), justifica-se o comportamento apresentado. De fato, a Fig. (10) mostra uma
580 correlação positiva entre a perda de massa e a taxa respiratória dos frutos.

581 **4.2 pH, AT e SS**

582 A diminuição da acidez titulável ao longo do armazenamento de frutos pode ser
583 atribuída à utilização dos ácidos orgânicos como substrato para a respiração e como esqueleto
584 de carbono para a síntese de novas substâncias ao longo do armazenamento. De fato, os frutos

585 ECOSN e ECWSN, que apresentaram as maiores médias para acidez titulável, exibiram
586 menor taxa respiratória, o que vai ao encontro dessa hipótese. Essa afirmação é reforçada,
587 ainda, pela Fig. (10), em que pode ser observada correlação negativa entre AT e a taxa
588 respiratória. Por outro lado, correlação positiva é observada entre AT e fenólicos totais. Sabe-
589 se que os compostos fenólicos possuem caráter ácido e podem de alguma forma contribuir
590 para a acidez dos frutos; sendo assim, a degradação de fenólicos ao longo do armazenamento
591 pode ser outra explicação para o decréscimo da acidez titulável nos morangos. Tosetti et al.
592 (2020) demonstraram que a degradação do ácido málico, e consequente aumento nos teores de
593 pH, está ligada ao processo de senescência dos morangos. Sendo assim, o fato de que os
594 frutos revestidos exibiram as menores médias para pH nos dois últimos tempos de
595 armazenamento (18 e 21 dias), mesmo período em que se observaram as menores médias
596 gerais para acidez titulável, pode ser indicativo de menor consumo de ácidos orgânicos nesses
597 tratamentos, o que reforça a efetividade dos revestimentos aplicados como reguladores dos
598 eventos catabólicos que culminam na perda de qualidade dos morangos.

599 O decréscimo de SS, ao longo do tempo de armazenamento, pode ser atribuído ao seu
600 consumo como substrato no processo respiratório dos frutos, além de poder estar relacionado
601 ao ataque fúngico (Siedliska et al., 2018). De fato, a Fig. (10) mostra uma correlação negativa
602 entre SS, a taxa respiratória e o crescimento fúngico, o que reforça a hipótese. Para além
603 disso, uma forte correlação negativa foi observada também entre SS e o teor de antocianinas.
604 Isso pode ser indicativo do consumo de glicose no processo de síntese de antocianinas (Sasaki
605 et al., 2014). Visto que os morangos revestidos exibiram as maiores médias de SS, na maioria
606 dos tempos, sugere-se o efeito positivo dos revestimentos na contenção dos processos
607 metabólicos relacionados à degradação desses compostos.

608 **4.3 Alterações na coloração**

609 A redução do valor L* dos frutos aponta seu escurecimento, corroborado pelo
610 aumento do BI e a forte correlação negativa entre ambas variáveis. O escurecimento da
611 superfície dos morangos pode ser atribuído a dois eventos: primeiramente, pode estar
612 associado ao processo de escurecimento enzimático, em que a enzima polifenoloxidase
613 (PPO) oxida compostos fenólicos presentes nos frutos a o-quinonas, culminando na produção
614 de pigmentos amarronzados, as melaninas (Constabel and Barbehenn, 2008; Queiroz et al.,
615 2008); de fato, a alta correlação entre BI e a atividade de PPO já foi reportada (Ali et al.,
616 2015); em segundo plano, o acastanhamento dos frutos pode estar relacionado à ação de
617 fungos que causam escurecimento dos tecidos (Feliziani and Romanazzi, 2016; Higuera et al.,

618 2019). A correlação positiva apresentada entre BI e o crescimento de fungos (Fig. (10))
619 reforça essa hipótese.

620 Sendo assim, o menor índice de escurecimento apresentado pelos morangos revestidos
621 pode ser atribuído a efeitos indiretos dos revestimentos comestíveis. Ao exercer efeito de
622 barreira e causar a diminuição da taxa respiratória e, conseqüentemente, do metabolismo dos
623 frutos, os revestimentos acabam por retardar eventos de senescência relacionados com a perda
624 da qualidade dos frutos, como visto até agora e como será visto adiante. Dentre esses eventos,
625 pode-se destacar a perda da firmeza, que apresenta relação indireta com o escurecimento
626 enzimático. A descompartimentação de membranas, uma das causas da perda da firmeza,
627 permite o contato de isoformas de polifenoloxidasas e peroxidases com seus substratos
628 fenólicos, acarretando no escurecimento. Essa afirmação é reforçada pela correlação negativa
629 entre os parâmetros BI e firmeza, além da correlação positiva apresentada entre BI e SP, PG e
630 Cx, parâmetros relacionados ao amolecimento dos frutos (Fig. (10)). Ademais, os
631 revestimentos utilizados podem ter reduzido a permeação do O₂ do ambiente para os tecidos
632 do morango, reduzindo a atividade enzimática, que tem esse gás atmosférico como substrato.

633 Por fim, considerando a hipótese de escurecimento dos tecidos pela ação de fungos, os
634 menores valores de BI apresentados pelos morangos revestidos podem ser atribuídos ao efeito
635 dos revestimentos na desaceleração no crescimento fúngico, conforme observado.

636 A diminuição do ângulo hue, notado visualmente pelo aumento da coloração vermelha
637 dos morangos, está relacionado à síntese de antocianinas, o que é comprovado pela correlação
638 negativa entre ambas variáveis (Fig. 10). As antocianinas são sintetizadas pela via
639 fenilpropanoide, no processo natural de amadurecimento, podendo ser consideradas como
640 respostas a situações de estresse fisiológico e desordens metabólicas, relacionadas ao processo
641 de senescência dos frutos (Ma and Constabel, 2019; Sharma et al., 2019). De fato, correlações
642 positivas foram observadas entre o teor de antocianinas e o crescimento de fungos, % de
643 frutos inaptos, perda de massa, taxa respiratória, BI, pectina solúvel e atividade das enzimas
644 de amaciamento PG e Cx, ao passo que correlações negativas foram apresentadas para os
645 teores de SS e AT, firmeza, teor de ácido ascórbico e fenólicos totais e atividade antioxidante.
646 Esses resultados reforçam a hipótese de que, nesse caso, o aumento de antocianinas está
647 relacionado aos eventos de senescência nos morangos. O menor acúmulo de antocianinas
648 observado nos morangos revestidos sugere a eficácia dos revestimentos no retardo da
649 senescência.

650 4.4 Alterações texturais

651 Pectinametilesterase (PME), poligalacturonase (PG), Celulase (Cx) e β -galactosidase
652 (β -Gal.) são enzimas associadas a modificações na parede celular de frutos, que culminam
653 com seu amaciamento (Moya-León et al., 2019; Pan et al., 2020; Payasi et al., 2009), fator
654 limitante para o armazenamento, consumo e comercialização de morangos (Feliziani and
655 Romanazzi, 2016; Paniagua et al., 2017). A PME atua promovendo a desmetilação de cadeias
656 de ácido poligalacturônico para que então a PG possa atuar, hidrolisando o ácido
657 poligalacturônico desmetilado em resíduos de ácido galacturônico (Sénéchal et al., 2014);
658 consequentemente, o teor de pectina solúvel tende a aumentar com a ação dessas enzimas de
659 amaciamento. Já a Cx compreende as enzimas endo-1,4- β -D- glucanase (EG), exo-1,4- β -D-
660 glucanase, e β -1,4-glucosidase, que agem na degradação de celulose e hemicelulose presentes
661 na parede celular, enquanto a β -Gal. é responsável por remover resíduos de galactosil em
662 cadeias laterais de polissacarídeos de parede celular (pectina e xiloglucanos), contribuindo
663 para a desestruturação da parede celular (Payasi et al., 2009).

664 O aumento na atividade da PME concomitante ao início do aumento da PG sugere a
665 importância da desmetilação parcial da cadeia pectínica, para a ação despolimerizante da PG.
666 As atividades das enzimas PG e Cx apresentaram correlação negativa com a firmeza e
667 positiva com o teor de pectina solúvel (Fig. 11), o que comprova o papel dessas enzimas,
668 direto no caso da PG e indireto no caso da Cx, na despolimerização e solubilização pectínica e
669 no amaciamento de morangos. Com efeito, a PG é uma das mais abundantes enzimas
670 observadas durante a maturação de morangos, associada ao seu amaciamento (Moya-León et
671 al., 2019; Wang et al., 2020). A ausência de correlações significativas entre a atividade de
672 PME e demais variáveis indica que a enzima exerce um efeito indireto no processo de
673 desmanche da parede celular, enquanto PG e Cx são as enzimas determinantes para a perda da
674 firmeza dos morangos.

675 Os revestimentos foram efetivos em conter o aumento da atividade da PG e
676 amaciamento dos morangos, ao longo do armazenamento. Assim, considerando-se a alta
677 correlação negativa da PG com a firmeza dos morangos, pode-se inferir que os revestimentos
678 aplicados contribuíram para a desaceleração dos processos envolvidos com o seu
679 amaciamento. Tendo em vista que o processo de amaciamento mediado pelas enzimas está
680 relacionado à atividade metabólica e à senescência dos frutos, o efeito exercido pelos
681 revestimentos sobre a taxa respiratória pode ser uma explicação para seu desempenho em
682 relação ao retardo do amaciamento dos morangos. De fato, observa-se correlação negativa

683 entre a taxa respiratória e a firmeza dos frutos, além da correlação positiva apresentada entre a
684 taxa respiratória e SP e enzimas PG e Cx (Fig. (10)). Embora os fatores
685 embalagem/revestimento e tempo de armazenamento não tenham afetado a β -Gal., ela se
686 mostrou ativa nos morangos estudados, o que não permite descartar sua importância no
687 amadurecimento desses frutos.

688 Além da ação das enzimas referidas, a perda de firmeza dos morangos pode ainda ser
689 consequência de outros eventos relacionados à senescência, como o desenvolvimento de
690 fungos. Como observado na Fig. (10), o crescimento de fungos e leveduras apresenta
691 correlação negativa com a firmeza e positiva com o teor de pectina solúvel. De fato, muitas
692 espécies de fungos que acometem morangos são capazes de produzir enzimas pectinolíticas e
693 celulolíticas, capazes de degradar o tecido dos frutos, culminando na perda de firmeza.
694 Exemplos são *R.stolonifer*, *Mucor* spp. e *B.cinerea*, fungos relacionados com o
695 desenvolvimento de *soft rot*, ou “podridão suave” e “bolor cinzento” em morangos, patologias
696 que culminam com o amaciamento dos tecidos (Feliziani and Romanazzi, 2016; Petrasch et
697 al., 2019; Romanazzi et al., 2013). Sendo assim, a proteção dos revestimentos aplicados frente
698 ao desenvolvimento de fungos, conforme já observado, pode ser outra explicação para esses
699 tratamentos terem exibido menor perda de firmeza.

700 O gráfico de correlação (Fig. (10)) também aponta uma relação inversamente
701 proporcional entre a firmeza dos morangos e BI. Áreas acometidas pelo escurecimento
702 enzimático têm sido relacionadas à maior propensão à perda de integridade celular (Franck et
703 al., 2007). Ao mesmo tempo em que a perda da integridade das membranas pode otimizar o
704 escurecimento enzimático pelo contato enzima-substrato, como já discutido anteriormente, o
705 processo de escurecimento enzimático também pode estar relacionado à perda da firmeza.
706 Esses resultados indicam como as variáveis avaliadas estão intimamente interligadas e como
707 os revestimentos exibiram efeitos indiretos sobre elas.

708 As micrografias apresentadas na Fig. (6) corroboram os resultados de firmeza e
709 atividade de enzimas de amaciamento, indicando maior preservação da integridade celular nos
710 morangos revestidos.

711 **4.5 Ácido ascórbico, fenólicos totais, perfil de fenólicos e atividade antioxidante**

712 A redução do ácido ascórbico, fenólicos totais e atividade antioxidante observada nos
713 morangos, a despeito da embalagem/revestimento, pode ser associada às reações de oxi-
714 redução comuns durante o amadurecimento e senescência dos frutos. Ao longo do

715 envelhecimento dos frutos, radicais livres são formados e varridos pelos antioxidantes
716 presentes, como o ácido ascórbico e fenólicos, o que culmina com a redução desses
717 compostos e da atividade antioxidante. A própria oxidação de compostos fenólicos pode ser
718 revertida pela ação redutora do ácido ascórbico, que é convertido reversivelmente a ácido
719 dehidroascórbico, ambos compostos com atividade vitamínica C. Entretanto, caso o ácido
720 dehidroascórbico seja oxidado, a atividade de vitamina C é perdida completamente, de forma
721 irreversível. A oxidação de mono e dihidroxi fenóis a *o*-quinonas, pode portanto, ser revertida
722 pela vitamina C (Ali et al., 2015; Landi et al., 2013). Entretanto, caso as *o*-quinonas se
723 polimerizem, dão origem a melaninas, responsáveis pelo escurecimento. Essa pode ser a
724 explicação para a forte correlação negativa observada entre BI e teor de ácido ascórbico (Fig.
725 (10)).

726 O efeito dos revestimentos aplicados na redução das perdas de ácido ascórbico e
727 atividade antioxidante nos morangos pode estar relacionado, entre outros aspectos, às
728 propriedades de barreira exibidas por esses materiais. Segundo Yaman and Bayoindirli
729 (2002), a oxidação do ácido ascórbico pode ser atribuída à ação das enzimas fenol oxidase e
730 ácido ascórbico oxidase, cujas atividades estão condicionadas ao teor de O₂ no meio. Jiao et
731 al. (2019) atribuíram a preservação dos teores de ácido ascórbico em pêssegos revestidos com
732 conjugado de quitosana-ácido clorogênico à inibição da taxa respiratória; o mesmo foi
733 reportado por Treviño-Garza et al. (2015) e Gol et al. (2013), para morangos revestidos com
734 quitosana. De fato, quanto maior a taxa respiratória, mais rapidamente o fruto envelhece,
735 aumentando as chances de formação de radicais livres e consumo de seu natural arsenal
736 antioxidante. Isso justifica a correlação negativa entre o ácido ascórbico e a taxa respiratória
737 dos morangos (Fig. (10)). Sendo assim, pela possível barreira imposta ao O₂ e pela
738 comprovada redução na atividade respiratória dos frutos, os revestimentos com ECOSN e
739 ECWSN contribuíram para a redução das perdas de ácido ascórbico e atividade antioxidante
740 ao longo do armazenamento dos morangos.

741 O ácido gálico tem sido reportado como antioxidante natural, atuando contra reações
742 de oxidação endógenas dos frutos (Polewski et al., 2002; Yen et al., 2002). Sendo assim,
743 sugere-se que a degradação de ácido gálico, assim como ocorrido para o teor de fenólicos
744 totais, seja atribuída aos eventos de senescência dos morangos, embora esse composto não
745 tenha sido afetado pela embalagem/revestimento. De fato, o teor de ácido gálico apresentou
746 correlação negativa com parâmetros como crescimento de fungos, % frutos inaptos, perda de
747 massa, taxa respiratória, BI, pectina solúvel e atividade das enzimas PG e Cx, enquanto

748 correlação positiva foi demonstrada para os teores de sólidos solúveis e acidez titulável,
749 firmeza, teor de ácido ascórbico e capacidade antioxidante, pelos três métodos avaliados (Fig.
750 (10)).

751 Por outro lado, a síntese de resveratrol, observada nos morangos em estudo, também
752 pode ser associada à senescência. A enzima fenilalanina-amônia-liase (PAL), principal
753 responsável pela síntese de antocianinas, que ocorre durante o amadurecimento e senescência
754 de morangos, exerce papel importante na síntese de resveratrol (Wang et al., 2018;
755 Giovino et al., 2012). A correlação positiva entre as duas variáveis (Fig. (10)) pode
756 justificar a associação do acúmulo de resveratrol com a senescência. Aceleração da taxa
757 respiratória, ação de enzimas degradantes e crescimento fúngico são eventos envolvidos com
758 a senescência de frutos, como o morango (Dixon and Paiva, 1995; Vogt, 2010). A síntese de
759 resveratrol é estimulada como resposta a esses eventos (Krawczyk, 2019; Li et al., 2017;
760 Lizard et al., 2020; Feliziani and Romanazzi, 2016; Petrasch et al., 2019; Xu et al., 2018).
761 De fato, quando se observa o gráfico de correlação (Fig. (11)), nota-se que o teor de
762 resveratrol está positivamente correlacionado com a taxa respiratória, o crescimento de
763 fungos, % de frutos inaptos, perda de massa, BI, pectina solúvel e atividade das enzimas PG e
764 Cx, enquanto correlações negativas são observadas para firmeza, atividade antioxidante e teor
765 de ácido ascórbico. Visto que os frutos revestidos apresentaram médias inferiores de
766 resveratrol, em comparação aos frutos controle, sugere-se que ECOSN e ECWSN são
767 eficientes no retardo e atenuação dos eventos envolvidos com a senescência e desordens
768 metabólicas de morangos.

769 A vanilina tem sido relacionada a processos de lignificação de tecidos vegetais
770 estressados e injuriados, sendo produzida a partir da oxidação do ácido ferúlico (Kumar and
771 Pruthi, 2014). Sendo assim, o maior teor de vanilina observado nos morangos controle pode
772 ser indicativo de maior dano ao tecido nesses frutos, em decorrência dos eventos envolvidos
773 com a senescência, como aumento da taxa respiratória, escurecimento enzimático, atividade
774 de enzimas envolvidas com o amaciamento e crescimento de fungos, todos interligados. De
775 fato, correlações positivas foram apresentadas entre essas variáveis e o teor de vanilina, ao
776 passo que para firmeza, teor de ácido ascórbico, fenólicos totais, atividade antioxidante
777 (FRAP e ABTS) e teor de ácido gálico, houve correlações negativas. Em adição, o fato do
778 teor de vanilina ter apresentado correlação positiva com o crescimento de fungos, pode estar
779 relacionada à capacidade já comprovada de certas espécies de fungos, como os do gênero
780 *Aspergillus*, em produzir vanilina por meio da clivagem de ácido ferulico (Banerjee and

781 Chattopadhyay, 2019; Lubbers et al., 2021; Taira et al., 2018); nesse caso, o maior teor de
782 vanilina nos frutos controle corrobora o maior crescimento de fungos, exibido por eles. Por
783 outro lado, o fato de os frutos revestidos terem apresentado menores teores de vanilina,
784 levando em conta as hipóteses sugeridas, reforça o efeito dos revestimentos no retardo dos
785 processos de senescência que culminam com a perda da qualidade dos frutos.

786 Assim como o ácido ascórbico, os compostos fenólicos também possuem efeito
787 redutor – atribuído ao grupamento hidroxila (OH), além da capacidade quelante de metais,
788 como Fe^{2+} e Cu^{+} , relacionados a processos de degradação em frutos (Karakaya, 2004; Min
789 and Ebeler, 2008). De fato, correlações positivas entre compostos fenólicos, teor de ácido
790 ascórbico e atividade antioxidante, avaliada pelos três métodos, foram observadas (Fig. (10)).
791 Sendo assim, a maior atividade antioxidante apresentada pelos frutos revestidos pode ser
792 atribuída aos efeitos de manutenção desses componentes, pelos mecanismos já discutidos
793 anteriormente; embora não tenha havido efeito significativo dos revestimentos sobre o teor de
794 fenólicos totais, esses mostraram exibir influência na prevenção do escurecimento
795 (representado pelos valores de BI), intimamente relacionado à degradação de compostos
796 fenólicos, conforme já abordado.

797 **4.6 Deterioração dos frutos**

798 Embora os frutos PA tenham apresentado crescimento significativo de fungos mais
799 tardiamente, os morangos ECOSN e ECWSN mantiveram menor número de proliferação,
800 sobretudo no final do armazenamento, indicando a efetividade dos revestimentos em retardar
801 o crescimento fúngico, nos morangos. Tendo em vista que os bionanocompósitos não
802 apresentam, em sua composição, nenhum componente com atividade antimicrobiana
803 comprovada, sugere-se que o efeito observado sobre a deterioração fúngica seja atribuído a
804 mecanismos indiretos já discutidos anteriormente, como as propriedades de barreira ao O_2 ,
805 que limitam a atividade de leveduras, anaeróbias facultativas, e bolores, estritamente
806 aeróbios (Barth et al., 2009; Franco and Landgraf, 2005) e a manutenção da integridade
807 textural, que dificulta a permeação de microrganismos para o interior dos tecidos. As
808 correlações positivas apresentadas entre crescimento fúngico, taxa respiratória e enzimas de
809 amaciamento e negativas entre crescimento fúngico e firmeza (Fig. (10)) reforçam as
810 afirmações.

811 Lu et al. (2018) estabelecem uma classificação para a taxa de deterioração causada por
812 bolores em morango, sendo 1= sem danos; 2= danos leves (<25%); 3= danos moderados (>

813 25% e <50%); 4= danos severos (>50% e <75%) e; 5= completamente danificados (>75% e
814 <100%). Baseado nessa escala, pode-se afirmar que os morangos armazenados sob as
815 condições do presente estudo apresentaram danos leves a moderados, sendo que os frutos
816 ECOSN alcançaram o os 21 dias de armazenamento com uma taxa de danos leves.

817 É importante ressaltar que, além do crescimento fúngico, a porcentagem de frutos
818 inaptos se relacionou a outros eventos associados à senescência, tendo apresentado correlação
819 significativa com parâmetros como perda de massa, aumento taxa respiratória, síntese de
820 antocianinas, escurecimento enzimático (BI), perda de firmeza, elevação no teor de pectina
821 solúvel, atividade de enzimas de amaciamento (PG e Cx), diminuição da atividade
822 antioxidante e do teor de ácido ascórbico e aumento do teor de resveratrol (Fig. (10)). Isso
823 indica a contribuição multivariada das variáveis avaliadas para a perda da qualidade dos
824 morangos e ressalta a efetividade dos revestimentos aplicados sobre o retardo desses eventos.

825 **4.8 PCA e correlação de Pearson**

826 Os gráficos de PCA (Fig. (9 a)) e clusterização hierárquica (Fig. (9 b)) reforçam o que
827 foi abordado, mostrando que os frutos revestidos mantiveram os maiores teores de atividade
828 antioxidante, menor degradação de sólidos solúveis e ácidos orgânicos, além de menor perda
829 de firmeza. De fato, os morangos revestidos até os 15 dias de armazenamento englobavam
830 subgrupos com características semelhantes às dos frutos no tempo inicial, compondo o
831 mesmo quadrante no gráfico de PCA, o que indica manutenção da qualidade por um período
832 maior de tempo. A correlação com maiores valores de ângulo hue reforçam a ação dos
833 revestimentos no retardado da síntese de antocianinas, relacionada ao processo de
834 senescência, além de ser indicativo de menor escurecimento dos tecidos; a posição oposta ao
835 vetor relacionado à BI reforça a afirmação. Em adição, os gráficos indicam que os frutos
836 controle exibiram correlação mais precoce a eventos relacionados à senescência, como síntese
837 de vanilina, escurecimento dos tecidos (representado por BI) e síntese de antocianinas – os
838 tratamentos PA compunham o subgrupo associado a essas variáveis a partir do 12º dia de
839 armazenamento, ao passo que o tratamento controle já englobava o subgrupo no 6º dia de
840 armazenamento. Ainda que eventos de senescência, como maior atividade de enzimas de
841 amaciamento, degradação da parede celular, crescimento de fungos, aumento do percentual de
842 frutos inaptos, perda de massa e síntese de resveratrol tenham apresentado correlação com os
843 frutos nos últimos tempos de armazenamento, a despeito do tratamento, estes foram menos
844 intensos nos frutos revestidos, o que reforça a efetividade dos revestimentos no retardo desses
845 eventos. Essa afirmação é reforçada pelo fato de que os tratamentos PA, a partir do tempo 12

846 e controle, a partir do tempo 6, englobavam o mesmo subgrupo dos tratamentos revestidos ao
847 18° e 21° dias de armazenamento, indicando que esses tratamentos, especialmente controle,
848 exibiram tais eventos de senescência mais precocemente em relação aos tratamentos
849 revestidos. Em adição, o fato de os tratamentos PA e controle nos últimos dias de
850 armazenamento (18 e 21) terem formado um subgrupo distinto dos tratamentos revestidos,
851 nos mesmos tempos de armazenamento, indica que os eventos de senescência foram mais
852 intensos nesses tratamentos, especialmente no controle, que ainda formava outros subgrupos
853 distintos de PA, nos tempos 18 e 21.

854 O fato da maior parte das variáveis estudadas ter exibido correlações significativas
855 entre si (Fig. (10)) indica a íntima relação entre os parâmetros, mostrando que a perda da
856 qualidade dos morangos não está associada a um ou mais eventos isolados e sim à
857 combinação de diversas variáveis, relacionadas direta ou indiretamente. Sendo assim, o efeito
858 inicial dos revestimentos sobre a diminuição da atividade respiratória e taxa metabólica dos
859 frutos acaba influenciando numa série de outros eventos, como demonstrado ao longo do
860 trabalho, provando, pois, a efetividade dos revestimentos com ECOSN e ECWSN no
861 prolongamento da vida útil e manutenção da qualidade dos morangos.

862 **5 Conclusões**

863 O revestimento dos morangos com bionanocompósitos à base de fécula de mandioca
864 reforçados com nanofibrilas celulósicas de palha de aveia e trigo foi efetivo no retardo no
865 metabolismo dos morangos armazenados a 2 °C, atrasando e minimizando uma série de
866 eventos relacionados a senescência.

867 Os morangos revestidos obtiveram melhor desempenho que aqueles armazenados em
868 embalagem selada de poliamida, indicando que os revestimentos elaborados apresentam
869 potencial para substituição de embalagens convencionais. Em adição, o fato dos morangos
870 revestidos terem apresentado melhor desempenho que os frutos controle, ambos armazenados
871 em mesma embalagem, indica o mínimo efeito exercido pela tampa rígida de polipropileno na
872 manutenção da qualidade dos morangos ao longo do armazenamento, o que permite afirmar
873 que o uso de uma segunda embalagem para os frutos revestidos é dispensável, reforçando
874 ainda mais a efetividade e potencial dos revestimentos elaborados como alternativa
875 biodegradável para a manutenção da qualidade pós-colheita de morangos.

876 Tendo em vista que a composição e as características de frutas e hortaliças são
877 variáveis, estudos envolvendo a aplicação dos revestimentos elaborados em outros frutos ou

878 hortaliças, ou até mesmo em outras matrizes alimentares, devem ser conduzidos, a fim de
879 testar sua efetividade e expandir as possibilidades de aplicação. Em adição, futuros estudos
880 envolvendo diferentes métodos de aplicação dos revestimentos na superfície dos frutos podem
881 ser conduzidos a fim de otimizar o processo.

882 **Agradecimentos**

883 Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico e
884 Científico (CNPq: 304413/2016-0, 302699/2019-8), à Fundação de Apoio à Pesquisa de
885 Minas Gerais (FAPEMIG: PPM-00458-15; PPM-00355-17 e à Coordenação de
886 Melhoramento do Pessoal do Ensino Superior (CAPES: 88881.068456/2014-01) pelo apoio
887 financeiro.

888 **Referências**

- 889 Ali, H.M., El-Gizawy, A.M., El-Bassiouny, R.E.I., Saleh, M.A., 2015. Browning inhibition
890 mechanisms by cysteine, ascorbic acid and citric acid, and identifying PPO-catechol-
891 cysteine reaction products. *J. Food Sci. Technol.* 52, 3651–3659.
892 <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1437-0>
- 893 AOAC INTERNATIONAL, 2016. *Official methods of Analysis*, 20th ed. AOAC
894 International, Rockville, MD.
- 895 Banerjee, G., Chattopadhyay, P., 2019. Vanillin biotechnology: the perspectives and future. *J.*
896 *Sci. Food Agric.* 99, 499–506. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9303>
- 897 Barth, M., Hankinson, T.R., Zhuang, H., Breidt, F., 2009. Compendium of the
898 Microbiological Spoilage of Foods and Beverages, Compendium of the Microbiological
899 Spoilage of Foods and Beverages. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0826-1>
- 900 Battino, M., Forbes-Hernández, T.Y., Gasparri, M., Afrin, S., Cianciosi, D., Zhang, J.,
901 Manna, P.P., Reboredo-Rodríguez, P., Lopez, A.V., Quiles, J.L., Mezzetti, B.,
902 Bompadre, S., Xiao, J., Giampieri, F., 2019. Relevance of functional foods in the
903 Mediterranean diet: the role of olive oil, berries and honey in the prevention of cancer
904 and cardiovascular diseases. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 59, 893–920.
905 <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1526165>
- 906 Blumenkrantz, N., Asboe-Hansen, G., 1973. New Method for Quantitative Determination of
907 Uronic Acids. *Anal. Biochem.* 54, 484–489.

908 2697(73)90377-1

909 Bodelón, O.G., Avizcuri, J.M., Fernández-Zurbano, P., Dizy, M., Préstamo, G., 2013.

910 Pressurization and cold storage of strawberry purée: Colour, anthocyanins, ascorbic acid
911 and pectin methylesterase. *LWT - Food Sci. Technol.* 52, 123–130.

912 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.025>

913 Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram

914 quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72,

915 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

916 BRASIL, 2001. BRASIL.Rdc Nº 12, De 2001. Aprova o Regulamento Técnico Sobre Os

917 Padrões Microbiológicos Para Alimentos. Órgão emissor: ANVISA - Agência Nacional

918 de Vigilância Sanitária. *Diário Of. da União* 2001, 5.

919 Constabel, C.P., Barbehenn, R., 2008. Defensive roles of polyphenol oxidase in plants. *Induc.*

920 *Plant Resist. to Herbiv.* 253–270. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8182-8_12

921 Cunha, M.C. Da, Silva, J.S., Elias, H.H. De S., Carvalho, E.E.N., Vilas Boas, E.V. de B.,

922 2021. Effects of processing and packaging on bioactive compounds of curriola jelly

923 [Pouteria ramiflora (Mart.) Radlk.] during storage. *Food Sci. Technol.* 41, 96–104.

924 <https://doi.org/10.1590/fst.38519>

925 Dixon, R.A., Paiva, N.L., 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 7,

926 1085–1097. <https://doi.org/10.1105/tpc.7.7.1085>

927 FAO, 2021. FAOSTAT [WWW Document]. URL <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>

928 (accessed 7.14.21).

929 Feliziani, E., Romanazzi, G., 2016. Postharvest decay of strawberry fruit: Etiology,

930 epidemiology, and disease management. *J. Berry Res.* 6, 47–63.

931 <https://doi.org/10.3233/JBR-150113>

932 Franck, C., Lammertyn, J., Ho, Q.T., Verboven, P., Verlinden, B., Nicolai, B.M., 2007.

933 Browning disorders in pear fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 43, 1–13.

934 <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.08.008>

935 Franco, B.D.G. de M., Landgraf, M., 2005. *Microbiologia dos alimentos*. Atheneu.

936 Galgano, F., Condelli, N., Favati, F., Di Bianco, V., Perretti, G., Caruso, M.C., 2015.

- 937 Biodegradable packaging and EDIBLE COATING for fresh-cut fruits and vegetables.
938 Ital. J. Food Sci. 27, 1–20. <https://doi.org/10.14674/1120-1770/ijfs.v70>
- 939 Garcia, L.C., Pereira, L.M., De Luca Sarantópoulos, C.I.G., Hubinger, M.D., 2012. Effect of
940 antimicrobial starch edible coating on shelf-life of fresh strawberries. Packag. Technol.
941 Sci. 25, 413–425. <https://doi.org/10.1002/PTS.987>
- 942 Giannoglou, M., Xanthou, Z.M., Chanioti, S., Stergiou, P., Christopoulos, M., Dimitrakellis,
943 P., Efthimiadou, A., Gogolides, E., Katsaros, G., 2021. Effect of cold atmospheric
944 plasma and pulsed electromagnetic fields on strawberry quality and shelf-life. Innov.
945 Food Sci. Emerg. Technol. 68. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102631>
- 946 Giovinazzo, G., Ingrosso, I., Paradiso, A., de Gara, L., Santino, A., 2012. Resveratrol
947 Biosynthesis: Plant Metabolic Engineering for Nutritional Improvement of Food. Plant
948 Foods Hum. Nutr. 67, 191–199. <https://doi.org/10.1007/s11130-012-0299-8>
- 949 Gol, N.B., Patel, P.R., Rao, T.V.R., 2013. Improvement of quality and shelf-life of
950 strawberries with edible coatings enriched with chitosan. Postharvest Biol. Technol. 85,
951 185–195. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.06.008>
- 952 Guimarães, M., Botaro, V.R., Novack, K.M., Teixeira, F.G., Tonoli, G.H.D., 2015.
953 Starch/PVA-based nanocomposites reinforced with bamboo nanofibrils. Ind. Crops Prod.
954 70, 72–83. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.014>
- 955 Han, J.W., Ruiz-Garcia, L., Qian, J.P., Yang, X.T., 2018. Food Packaging: A Comprehensive
956 Review and Future Trends. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 17, 860–877.
957 <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12343>
- 958 Higuera, J.J., Garrido-Gala, J., Lekhbou, A., Arjona-Girona, I., Amil-Ruiz, F., Mercado, J.A.,
959 Pliego-Alfaro, F., Muñoz-Blanco, J., López-Herrera, C.J., Caballero, J.L., 2019. The
960 strawberry faWRKY1 transcription factor negatively regulates resistance to
961 Colletotrichum acutatum in fruit upon infection. Front. Plant Sci. 10.
962 <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00480>
- 963 Jiang, Y., Yu, L., Hu, Y., Zhu, Z., Zhuang, C., Zhao, Y., Zhong, Y., 2020. The preservation
964 performance of chitosan coating with different molecular weight on strawberry using
965 electrostatic spraying technique. Int. J. Biol. Macromol. 151, 278–285.
966 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.169>

- 967 Jiao, W., Shu, C., Li, X., Cao, J., Fan, X., Jiang, W., 2019. Preparation of a chitosan-
968 chlorogenic acid conjugate and its application as edible coating in postharvest
969 preservation of peach fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 154, 129–136.
970 <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.05.003>
- 971 Karakaya, S., 2004. Bioavailability of phenolic compounds. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44,
972 453–464. <https://doi.org/10.1080/10408690490886683>
- 973 Khalil, H.P.S.A., Banerjee, A., Saurabh, C.K., Tye, Y.Y., Suriani, A.B., Mohamed, A.,
974 Karim, A.A., Rizal, S., Paridah, M.T., 2018. Biodegradable Films for Fruits and
975 Vegetables Packaging Application: Preparation and Properties. *Food Eng. Rev.* 10, 139–
976 153. <https://doi.org/10.1007/s12393-018-9180-3>
- 977 Kornacki, J.L., Gurtler, J.B., Stawick, B.A., 2015. 9. Enterobacteriaceae, Coliforms, and
978 *Escherichia coli* as Quality and Safety Indicators, in: *Compendium of Methods for the*
979 *Microbiological Examination of Foods.* American Public Health Association, pp. 69–82.
980 <https://doi.org/10.2105/mbef.0222.014>
- 981 Krawczyk, H., 2019. The stilbene derivatives, nucleosides, and nucleosides modified by
982 stilbene derivatives. *Bioorg. Chem.* 90, 103073.
983 <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103073>
- 984 Kumar, N., Pruthi, V., 2014. Potential applications of ferulic acid from natural sources.
985 *Biotechnol. Reports.* <https://doi.org/10.1016/j.btre.2014.09.002>
- 986 Kumar, S., Kumar, R., Nambi, V.E., Gupta, R.K., 2014. Postharvest Changes in Antioxidant
987 Capacity, Enzymatic Activity, and Microbial Profile of Strawberry Fruits Treated with
988 Enzymatic and Divalent Ions. *Food Bioprocess Technol.* 7, 2060–2070.
989 <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1212-7>
- 990 Kwak, H., Shin, S., Kim, Jaehwan, Kim, Joonggon, Lee, D., Lee, H., Lee, E.J., Hyun, J.,
991 2021b. Protective coating of strawberries with cellulose nanofibers. *Carbohydr. Polym.*
992 258. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117688>
- 993 Lago, R.C. do, de Oliveira, A.L.M., Cordasso Dias, M., de Carvalho, E.E.N., Denzin Tonoli,
994 G.H., de Barros Vilas Boas, E.V., 2020. Obtaining cellulosic nanofibrils from oat straw
995 for biocomposite reinforcement: Mechanical and barrier properties. *Ind. Crops Prod.*
996 148. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112264>

- 997 Lago, R.C. do, Oliveira, A.L.M., Santos, A. de A. dos, Zitha, E.Z.M., Carvalho, E.E.N.,
998 Tonoli, G.H.D., Vilas Boas, E.V. de B., 2021. Addition of wheat straw nanofibrils to
999 improve the mechanical and barrier properties of cassava starch – based
1000 bionanocomposites. *Ind. Crop. Prod.* 170, 113816.
1001 <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113816>
- 1002 Landi, M., Degl’Innocenti, E., Guglielminetti, L., Guidi, L., 2013. Role of ascorbic acid in the
1003 inhibition of polyphenol oxidase and the prevention of browning in different browning-
1004 sensitive *Lactuca sativa* var. *capitata* (L.) and *Eruca sativa* (Mill.) stored as fresh-cut
1005 produce. *J. Sci. Food Agric.* 93, 1814–1819. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5969>
- 1006 Li, R., Xie, X., Ma, F., Wang, D., Wang, L., Zhang, J., Xu, Y., Wang, X., Zhang, C., Wang,
1007 Y., 2017. Resveratrol accumulation and its involvement in stilbene synthetic pathway of
1008 Chinese wild grapes during berry development using quantitative proteome analysis. *Sci.*
1009 *Rep.* 7, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10171-x>
- 1010 Lizard, G., Latruffe, N., Vervandier-Fasseur, D., 2020. Aza- And azo-stilbenes: Bio-isosteric
1011 analogs of resveratrol. *Molecules.* <https://doi.org/10.3390/molecules25030605>
- 1012 López-Córdoba, A., Medina-Jaramillo, C., Piñeros-Hernandez, D., Goyanes, S., 2017.
1013 Cassava starch films containing rosemary nanoparticles produced by solvent
1014 displacement method. *Food Hydrocoll.* 71, 26–34.
1015 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.04.028>
- 1016 Lu, H., Wang, K., Wang, L., Li, D., Yan, J., Ban, Z., Luo, Z., Li, L., Yang, D., 2018. Effect of
1017 superatmospheric oxygen exposure on strawberry (*Fragaria × ananassa* Fuch.) volatiles,
1018 sensory and chemical attributes. *Postharvest Biol. Technol.* 142, 60–71.
1019 <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.04.007>
- 1020 Lubbers, R.J.M., Dilokpimol, A., Visser, J., de Vries, R.P., 2021. *Aspergillus niger* uses the
1021 peroxisomal CoA-dependent β -oxidative genes to degrade the hydroxycinnamic acids
1022 caffeic acid, ferulic acid, and p-coumaric acid. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 105, 4199–
1023 4211. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11311-0>
- 1024 Luksiene, Z., Buchovec, I., 2019. Impact of chlorophyllin-chitosan coating and visible light
1025 on the microbial contamination, shelf life, nutritional and visual quality of strawberries.
1026 *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 52, 463–472.
1027 <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.02.003>

- 1028 Ma, D., Constabel, C.P., 2019. MYB Repressors as Regulators of Phenylpropanoid
1029 Metabolism in Plants. *Trends Plant Sci.* 24, 275–289.
1030 <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.12.003>
- 1031 Mazzoni, L., Di Vittori, L., Balducci, F., Forbes-Hernández, T.Y., Giampieri, F., Battino, M.,
1032 Mezzetti, B., Capocasa, F., 2020. Sensorial and nutritional quality of inter and intra—
1033 Specific strawberry genotypes selected in resilient conditions. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*.
1034 261, 108945. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108945>
- 1035 McCready, R., McComb, E., 1952. Extraction and Determination of Total Pectic Materials in
1036 Fruits. *Anal. Chem.* 24. <https://doi.org/10.1021/ac60072a033>
- 1037 Medina, M.B., 2011. Simple and rapid method for the analysis of phenolic compounds in
1038 beverages and grains. *J. Agric. Food Chem.* 59, 1565–1571.
1039 <https://doi.org/10.1021/jf103711c>
- 1040 Miller, K., Feucht, W., Schmid, M., 2019. Bioactive compounds of strawberry and blueberry
1041 and their potential health effects based on human intervention studies: A brief overview.
1042 *Nutrients* 11. <https://doi.org/10.3390/nu11071510>
- 1043 Min, K., Ebeler, S.E., 2008. Flavonoid effects on DNA oxidation at low concentrations
1044 relevant to physiological levels. *Food Chem. Toxicol.* 46, 96–104.
1045 <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.07.002>
- 1046 Mohamed, S.A.A., El-Sakhawy, M., El-Sakhawy, M.A.M., 2020. Polysaccharides, Protein
1047 and Lipid -Based Natural Edible Films in Food Packaging: A Review. *Carbohydr.*
1048 *Polym.* 238, 116178. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116178>
- 1049 Moya-León, M.A., Mattus-Araya, E., Herrera, R., 2019. Molecular events occurring during
1050 softening of strawberry fruit. *Front. Plant Sci.* <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00615>
- 1051 Muley, A.B., Singhal, R.S., 2020. Extension of postharvest shelf life of strawberries (*Fragaria*
1052 *ananassa*) using a coating of chitosan-whey protein isolate conjugate. *Food Chem.* 329,
1053 127213. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127213>
- 1054 Nascimento, D.M., Nunes, Y.L., Figueirêdo, M.C.B., De Azeredo, H.M.C., Aouada, F.A.,
1055 Feitosa, J.P.A., Rosa, M.F., Dufresne, A., 2018. Nanocellulose nanocomposite
1056 hydrogels: Technological and environmental issues. *Green Chem.* 20, 2428–2448.
1057 <https://doi.org/10.1039/c8gc00205c>

- 1058 Nasrin, T.A.A., Rahman, M.A., Hossain, M.A., Islam, M.N., Arfin, M.S., 2017. Postharvest
1059 quality response of strawberries with aloe vera coating during refrigerated storage. *J.*
1060 *Hortic. Sci. Biotechnol.* 92, 598–605. <https://doi.org/10.1080/14620316.2017.1324326>
- 1061 Nechyporchuk, O., Belgacem, M.N., Bras, J., 2016. Production of cellulose nanofibrils: A
1062 review of recent advances. *Ind. Crops Prod.* 93, 2–25.
1063 <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.02.016>
- 1064 Owi, W.T., Ong, H.L., Sam, S.T., Villagrancia, A.R., Tsai, C. kuo, Akil, H.M., 2019.
1065 Unveiling the physicochemical properties of natural *Citrus aurantifolia* crosslinked
1066 tapioca starch/nanocellulose bionanocomposites. *Ind. Crops Prod.* 139, 111548.
1067 <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111548>
- 1068 Paniagua, C., Santiago-Doménech, N., Kirby, A.R., Gunning, A.P., Morris, V.J., Quesada,
1069 M.A., Matas, A.J., Mercado, J.A., 2017. Structural changes in cell wall pectins during
1070 strawberry fruit development. *Plant Physiol. Biochem.* 118, 55–63.
1071 <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.06.001>
- 1072 Panou, A.A., Karabagias, I.K., Riganakos, K.A., 2019. *International Journal of Fruit Science*
1073 *Effect of Gamma-Irradiation on Sensory Characteristics, Physicochemical Parameters,*
1074 *and Shelf Life of Strawberries Stored under Refrigeration.*
1075 <https://doi.org/10.1080/15538362.2019.1608890>
- 1076 Pelissari, F.M., Andrade-Mahecha, M.M., Sobral, P.J. do A., Menegalli, F.C., 2017.
1077 Nanocomposites based on banana starch reinforced with cellulose nanofibers isolated
1078 from banana peels. *J. Colloid Interface Sci.* 505, 154–167.
1079 <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.05.106>
- 1080 Pelissari, F.M., Ferreira, D.C., Louzada, L.B., Dos Santos, F., Corrêa, A.C., Moreira, F.K.V.,
1081 Mattoso, L.H., 2018. Starch-based edible films and coatings: An eco-friendly alternative
1082 for food packaging, *Starches for Food Application: Chemical, Technological and Health*
1083 *Properties.* Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809440-2.00010-1>
- 1084 Perdones, A., Sánchez-González, L., Chiralt, A., Vargas, M., 2012. Effect of chitosan-lemon
1085 essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. *Postharvest Biol.*
1086 *Technol.* 70, 32–41. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.04.002>
- 1087 Peretto, G., Du, W.X., Avena-Bustillos, R.J., Sarreal, S.B.L., Hua, S.S.T., Sambo, P.,
1088 McHugh, T.H., 2014. Increasing strawberry shelf-life with carvacrol and methyl

- 1089 cinnamate antimicrobial vapors released from edible films. *Postharvest Biol. Technol.*
1090 89, 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.11.003>
- 1091 Petrasch, S., Knapp, S.J., van Kan, J.A.L., Blanco-Ulate, B., 2019. Grey mould of strawberry,
1092 a devastating disease caused by the ubiquitous necrotrophic fungal pathogen *Botrytis*
1093 *cinerea*. *Mol. Plant Pathol.* 20, 877–892. <https://doi.org/10.1111/mpp.12794>
- 1094 Pinzon, M.I., Sanchez, L.T., Garcia, O.R., Gutierrez, R., Luna, J.C., Villa, C.C., 2020.
1095 Increasing shelf life of strawberries (*Fragaria* ssp) by using a banana starch-chitosan-
1096 Aloe vera gel composite edible coating. *Int. J. Food Sci. Technol.* 55, 92–98.
1097 <https://doi.org/10.1111/ijfs.14254>
- 1098 Polewski, K., Kniat, S., Sławińska, D., 2002. Gallic acid, a natural antioxidant, in aqueous
1099 and micellar environment: spectroscopic studies. *Curr. Top. Biophys.* 26, 217–227.
- 1100 Posé, S., Nieves, J.A.G., Quesada, F.P.M.A., Mercado, J.A., 2011. Strawberry Fruit
1101 Softening : Role of Cell Wall Disassembly and its Manipulation in Transgenic Plants.
- 1102 Queiroz, C., Mendes Lopes, M.L., Fialho, E., Valente-Mesquita, V.L., 2008. Polyphenol
1103 oxidase: Characteristics and mechanisms of browning control. *Food Rev. Int.* 24, 361–
1104 375. <https://doi.org/10.1080/87559120802089332>
- 1105 Rajinipriya, M., Nagalakshmaiah, M., Robert, M., Elkoun, S., 2018. Importance of
1106 Agricultural and Industrial Waste in the Field of Nanocellulose and Recent Industrial
1107 Developments of Wood Based Nanocellulose: A Review. *ACS Sustain. Chem. Eng.* 6,
1108 2807–2828. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b03437>
- 1109 Resende, N.S., Gonçalves, G.A.S., Reis, K.C., Tonoli, G.H.D., Boas, E.V.B.V., 2018.
1110 Chitosan/Cellulose Nanofibril Nanocomposite and Its Effect on Quality of Coated
1111 Strawberries. *J. Food Qual.* 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/1727426>
- 1112 Rhim, J.W., Park, H.M., Ha, C.S., 2013. Bio-nanocomposites for food packaging
1113 applications. *Prog. Polym. Sci.* 38, 1629–1652.
1114 <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2013.05.008>
- 1115 Romanazzi, G., Feliziani, E., Santini, M., Landi, L., 2013. Effectiveness of postharvest
1116 treatment with chitosan and other resistance inducers in the control of storage decay of
1117 strawberry. *Postharvest Biol. Technol.* 75, 24–27.
1118 <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.07.007>

- 1119 RStudio Team, 2015. RStudio | Open source & professional software for data science
1120 teams. RStudio.
- 1121 Ryu, D., Wolf-Hall, C., 2015. 21. Yeasts and Molds, in: Compendium of Methods for the
1122 Microbiological Examination of Foods. <https://doi.org/10.2105/MBEF.0222.026>
- 1123 Sánchez-Sevilla, J.F., Vallarino, J.G., Osorio, S., Bombarely, A., Posé, D., Merchante, C.,
1124 Botella, M.A., Amaya, I., Valpuesta, V., 2017. Gene expression atlas of fruit ripening
1125 and transcriptome assembly from RNA-seq data in octoploid strawberry (*Fragaria* ×
1126 *ananassa*). *Sci. Rep.* 7. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14239-6>
- 1127 Sasaki, N., Nishizaki, Y., Ozeki, Y., Miyahara, T., 2014. The role of acyl-glucose in
1128 anthocyanin modifications. *Molecules* 19, 18747–18766.
1129 <https://doi.org/10.3390/molecules191118747>
- 1130 Seligra, P.G., Medina Jaramillo, C., Famá, L., Goyanes, S., 2016. Biodegradable and non-
1131 retrogradable eco-films based on starch-glycerol with citric acid as crosslinking agent.
1132 *Carbohydr. Polym.* 138, 66–74. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.041>
- 1133 Sharma, A., Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., Zheng, B., 2019. Response
1134 of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress.
1135 *Molecules*. <https://doi.org/10.3390/molecules24132452>
- 1136 Sharma, P., Shehin, V.P., Kaur, N., Vyas, P., 2019. Application of edible coatings on fresh
1137 and minimally processed vegetables: a review. *Int. J. Veg. Sci.* 25, 295–314.
1138 <https://doi.org/10.1080/19315260.2018.1510863>
- 1139 Siedliska, A., Baranowski, P., Zubik, M., Mazurek, W., Sosnowska, B., 2018. Detection of
1140 fungal infections in strawberry fruit by VNIR/SWIR hyperspectral imaging. *Postharvest*
1141 *Biol. Technol.* 139, 115–126. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.01.018>
- 1142 Barcia, M.T., B. Pertuzatti, P., C. Jacques, A., T. Godoy, H., Zambiazzi, R., 2012. Bioactive
1143 Compounds, Antioxidant Activity and Percent Composition of Jambolão Fruits
1144 (*Syzygium cumini*). *Nat. Prod. Journale* 2, 129–138.
1145 <https://doi.org/10.2174/2210315511202020129>
- 1146 Tahir, H.E., Xiaobo, Z., Mahunu, G.K., Arslan, M., Abdalhai, M., Zhihua, L., 2019. Recent
1147 developments in gum edible coating applications for fruits and vegetables preservation:
1148 A review. *Carbohydr. Polym.* 224, 115141.

- 1149 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115141>
- 1150 Taira, J., Toyoshima, R., Ameku, N., Iguchi, A., Tamaki, Y., 2018. Vanillin production by
1151 biotransformation of phenolic compounds in fungus, *Aspergillus luchuensis*. *AMB*
1152 *Express* 8, 40. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0569-4>
- 1153 Tavares, T.S., Rocha, D.A., Queiroz, E. de R., Abreu, C.M.P. de, Oliveira, A.M. de, Oliveira
1154 Junior, E.N. de, 2019. Revestimentos de quitosana na manutenção da qualidade de
1155 morango durante o armazenamento refrigerado. *Brazilian J. Dev.* 5, 5434–5448.
1156 <https://doi.org/10.34117/bjdv5n6-081>
- 1157 Thakur, R., Pristijono, P., Scarlett, C.J., Bowyer, M., Singh, S.P., Vuong, Q. V., 2019. Starch-
1158 based films: Major factors affecting their properties. *Int. J. Biol. Macromol.* 132, 1079–
1159 1089. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.190>
- 1160 Thomas, A.B., Nassur, R.D.C.M.R., Boas, A.C.V., Lima, L.C.D.O., 2016. Cassava starch
1161 edible coating incorporated with propolis on bioactive compounds in strawberries. *Cienc.*
1162 *e Agrotecnologia* 40, 87–96. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542016000100008>
- 1163 Tosetti, R., Elmi, F., Pradas, I., Cools, K., Terry, L.A., 2020. Continuous Exposure to
1164 Ethylene Differentially Affects Senescence in Receptacle and Achene Tissues in
1165 Strawberry Fruit. *Front. Plant Sci.* 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00174>
- 1166 Treviño-Garza, M.Z., García, S., Flores-González, M. del S., Arévalo-Niño, K., 2015. Edible
1167 Active Coatings Based on Pectin, Pullulan, and Chitosan Increase Quality and Shelf Life
1168 of Strawberries (*Fragaria ananassa*). *J. Food Sci.* 80, M1823–M1830.
1169 <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12938>
- 1170 United States Department of Agriculture (USDA), 2017. Notice of Change Chapter new ,
1171 revised , or archived : MLG 4 Appendix 2 . 02 Title : Flow Chart Specific for FSIS
1172 Laboratory Salmonella Analysis Description and purpose of change (s): This flow chart
1173 was issued in association with MLG 4 . 08 Isolation a, in: *Micorbiology Laboratory*
1174 *Guidebook*.
- 1175 Verma, C., R.K, S., Singh, R.B., Mishra, S., 2015. Biochemical and In-silico Studies on
1176 Pectin Methylesterase from G9 Variety of *Musa acuminata* for Delayed Ripening. *Open*
1177 *Biochem. J.* 9, 15–23. <https://doi.org/10.2174/1874091x01509010015>
- 1178 Vogt, T., 2010. Phenylpropanoid biosynthesis. *Mol. Plant* 3, 2–20.

- 1179 <https://doi.org/10.1093/mp/ssp106>
- 1180 Wang, K., Li, T., Chen, S., Li, Y., Rashid, A., 2020. The biochemical and molecular
1181 mechanisms of softening inhibition by chitosan coating in strawberry fruit (*Fragaria x*
1182 *ananassa*) during cold storage. *Sci. Hort. (Amsterdam)*. 271, 109483.
1183 <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109483>
- 1184 Xu, D., Yu, G., Xi, P., Kong, X., Wang, Q., Gao, L., Jiang, Z., 2018. Synergistic effects of
1185 resveratrol and pyrimethanil against *Botrytis cinerea* on grape. *Molecules* 23.
1186 <https://doi.org/10.3390/molecules23061455>
- 1187 Xu, K., Shi, Z., Lyu, J., Zhang, Q., Zhong, T., Du, G., Wang, S., 2020. Effects of
1188 hydrothermal pretreatment on nano-mechanical property of switchgrass cell wall and on
1189 energy consumption of isolated lignin-coated cellulose nanofibrils by mechanical
1190 grinding. *Ind. Crops Prod.* 149, 112317. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112317>
- 1191 Yaman, Ö., Bayoindirli, L., 2002. Effects of an edible coating and cold storage on shelf-life
1192 and quality of cherries. *LWT - Food Sci. Technol.* 35, 146–150.
1193 <https://doi.org/10.1006/fstl.2001.0827>
- 1194 Yen, G.C., Duh, P. Der, Tsai, H.L., 2002. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic
1195 acid and gallic acid. *Food Chem.* 79, 307–313. [https://doi.org/10.1016/S0308-](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00145-0)
1196 [8146\(02\)00145-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00145-0)
- 1197 Zitha, E.Z.M., Beatriz, A., Araújo, S., Machado, S., Helena, H., Elias, D.S., Elena, E.,
1198 Carvalho, N., Valério, E., Vilas, D.B., 2021. Impact of processing and packages on
1199 bioactive compounds and antioxidant activity of Mangaba Jelly 2061, 1–10.

1200

1201 **Legenda de figuras**

1202 **Fig.1** Morangos utilizados no ensaio. (a) morangos com revestimento comestível recém-
1203 aplicados; (b) morangos revestidos após secagem do revestimento; (c) deteriorações visuais
1204 nos frutos; (d) morangos embalados de acordo com o tratamento. ECOSN: *edible coating with*
1205 *oat straw nanofibrils*; ECWSN: *edible coating with wheat straw nanofibrils*.

1206 **Fig.2** Gráficos de barra e gráficos de regressão polinomial para as variáveis taxa respiratória
1207 (a); CO₂ no *headspace* (b) e perda de massa (c) de morangos em diferentes tipos de
1208 embalagens armazenados a frio por 21 dias. ECOSN: *edible coating with oat straw*

1209 *nanofibrils*; ECWSN: *edible coating with wheat straw nanofibrils*; PA: morangos
1210 armazenados em embalagem de polipropileno selada com poliamida. Barras de erros nos
1211 gráficos de barras indicam os valores de desvio-padrão. Tratamentos seguidos das mesmas
1212 letras (dentro do mesmo tempo de armazenamento) não diferem entre si pelo teste de Scott
1213 Knott a 0.05 de significância.

1214 **Fig.3** Gráficos de barra e gráficos de regressão polinomial para as variáveis acidez titulável
1215 (a); pH (b) e sólidos solúveis (c) de morangos em diferentes tipos de embalagens
1216 armazenados a frio por 21 dias. ECOSN: *edible coating with oat straw nanofibrils*; ECWSN:
1217 *edible coating with wheat straw nanofibrils*; PA: morangos armazenados em embalagem de
1218 polipropileno selada com poliamida. Barras de erros nos gráficos de barras indicam os valores
1219 de desvio-padrão. Tratamentos seguidos das mesmas letras (dentro do mesmo tempo de
1220 armazenamento) não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 0.05 de significância.

1221 **Fig.4** Gráficos de regressão polinomial para parâmetros de coloração e teor de antocianinas de
1222 morangos em diferentes tipos de embalagens armazenados a frio por 21 dias. ECOSN: *edible*
1223 *coating with oat straw nanofibrils*; ECWSN: *edible coating with wheat straw nanofibrils*; PA:
1224 morangos armazenados em embalagem de polipropileno selada com poliamida. Tratamentos
1225 seguidos das mesmas letras (dentro do mesmo tempo de armazenamento) não diferem entre si
1226 pelo teste de Scott Knott a 0.05 de significância.

1227 **Fig.5** Gráficos de barra e gráficos de regressão polinomial para os parâmetros relacionados à
1228 textura de morangos em diferentes tipos de embalagens armazenados a frio por 21 dias.
1229 ECOSN: *edible coating with oat straw nanofibrils*; ECWSN: *edible coating with wheat straw*
1230 *nanofibrils*; PA: morangos armazenados em embalagem de polipropileno selada com
1231 poliamida. Barras de erros nos gráficos de barras indicam os valores de desvio-padrão.
1232 Tratamentos seguidos das mesmas letras (dentro do mesmo tempo de armazenamento) não
1233 diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 0.05 de significância.

1234 **Fig.6** Micrografias obtidas em MEV para morangos em diferentes tipos de embalagens
1235 armazenados a frio aos 0, 12 e 21 dias. ECOSN: *edible coating with oat straw nanofibrils*;
1236 ECWSN: *edible coating with wheat straw nanofibrils*. Magnificação 350 x.

1237 **Fig.7** Gráficos de barra e gráficos de regressão polinomial para as variáveis teor de ácido
1238 ascórbico, fenólicos totais, perfil de fenólicos e atividade antioxidante de morangos em
1239 diferentes tipos de embalagens armazenados a frio por 21 dias. ECOSN: *edible coating with*
1240 *oat straw nanofibrils*; ECWSN: *edible coating with wheat straw nanofibrils*; PA: morangos

1241 armazenados em embalagem de polipropileno selada com poliamida. Barras de erros nos
1242 gráficos de barras indicam os valores de desvio-padrão. Tratamentos seguidos das mesmas
1243 letras (dentro do mesmo tempo de armazenamento) não diferem entre si pelo teste de Scott
1244 Knott a 0.05 de significância.

1245 **Fig.8** Gráficos de regressão polinomial para as variáveis bolores e leveduras (a) e % de frutos
1246 inaptos (b) de morangos em diferentes tipos de embalagens armazenados a frio por 21 dias.
1247 ECOSN: edible coating with oat straw nanofibrils; ECWSN: edible coating with wheat straw
1248 nanofibrils. Barras de erros nos gráficos de barras indicam os valores de desvio-padrão.
1249 Tratamentos seguidos das mesmas letras (dentro do mesmo tempo de armazenamento) não
1250 diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 0.05 de significância.

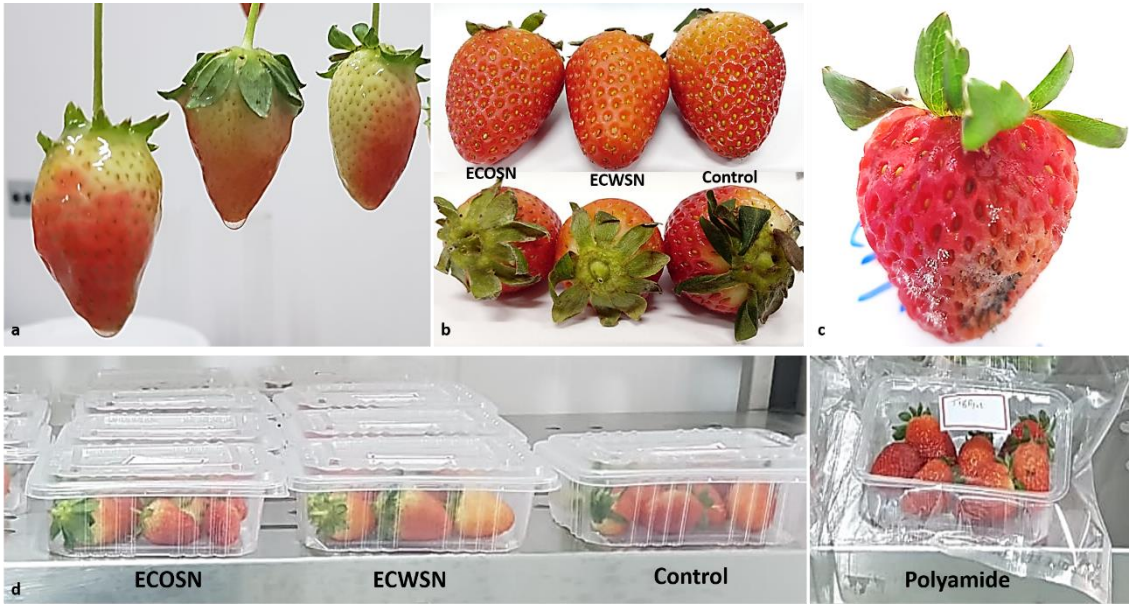
1251 **Fig.9** Análise de componentes principais (PCA) (a) e clusterização hierárquica (b) das
1252 variáveis avaliadas em morangos em diferentes tipos de embalagens armazenados a frio por
1253 21 dias. SS: *soluble solids*; TA: *titratable acidity*; MY: *molds and yeasts*; IF: *inapt fruits*; ML:
1254 *mass loss*; RR: *respiration rate*; BI: *browning index*; SP: *soluble pectin*; PG:
1255 *poligalacturonase*; PME: *pectinametilsterase*; Cx: *celulase*; AA β -carot./lin.acid: *antioxidant*
1256 *activity β -carotene/linoleic acid method*; AA FRAP: *antioxidant activity FRAP method*; AA
1257 *ABTS: antioxidant activity ABTS method*; TP: *total phenolics*; GA: *gallic acid*. ECOSN:
1258 *edible coating with oat straw nanofibrils*; ECWSN: *edible coating with wheat straw*
1259 *nanofibrils*; PA: morangos armazenados em embalagem selada com poliamida. Tratamentos
1260 circulados no gráfico de PCA correspondem aos principais subgrupos formados na análise de
1261 clusterização hierárquica.

1262 **Fig.10** Gráfico de correlação para as variáveis avaliadas em morangos em diferentes tipos de
1263 embalagens armazenados a frio por 21 dias. SS: *soluble solids*; TA: *titratable acidity*; MY:
1264 *molds and yeasts*; IF: *inapt fruits*; ML: *mass loss*; RR: *respiration rate*; BI: *browning index*;
1265 SP: *soluble pectin*; PG: *poligalacturonase*; PME: *pectinametilsterase*; Cx: *celulase*; AA β -
1266 *carot./lin.acid: antioxidant activity β -carotene/linoleic acid method*; AA FRAP: *antioxidant*
1267 *activity FRAP method*; AA ABTS: *antioxidant activity ABTS method*; TP: *total phenolics*;
1268 GA: *gallic acid*. Coloração azul indica correlações positivas e coloração vermelha,
1269 correlações negativas. O tamanho das esferas e a intensidade da coloração são proporcionais
1270 ao grau de correlação. Áreas marcadas com X indicam correlação não significativa ($p > 0.05$).

1271

1272

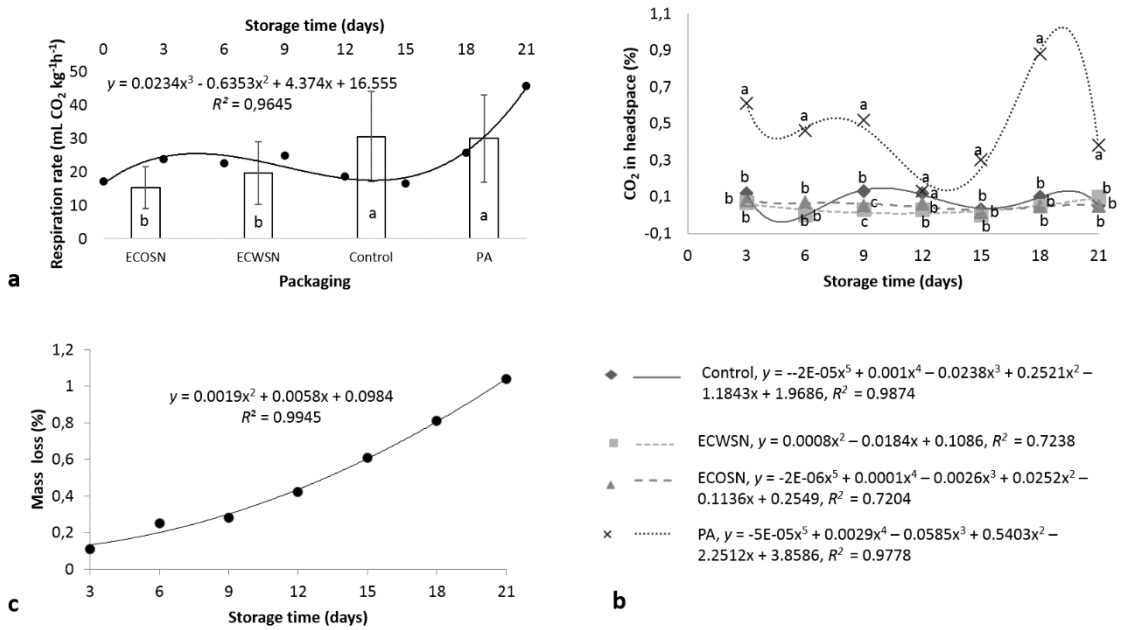
1273 **Fig.1**



1274

1275

1276 **Fig.2**



1277

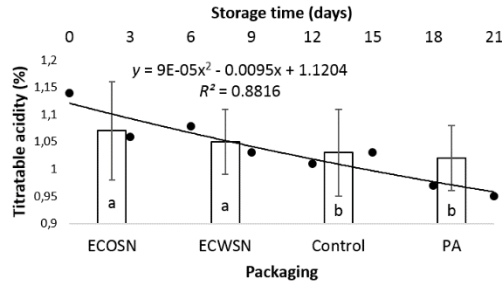
1278

1279

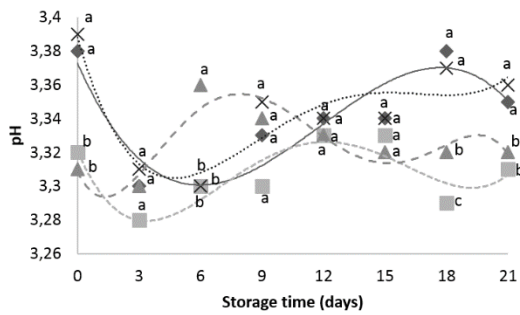
1280

1281

1282 **Fig.3**

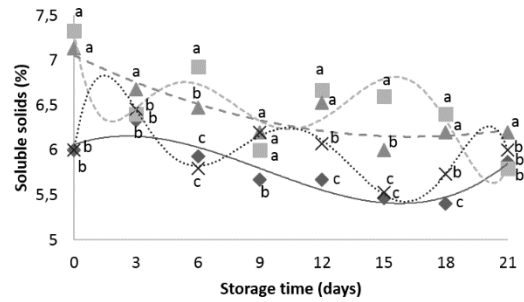


a



- ◆ Control, $y = -9E-05x^3 + 0.0031x^2 - 0.0272x + 3.3727$, $R^2 = 0.822$
- ECWSN, $y = 9E-06x^4 - 0.0004x^3 + 0.0062x^2 - 0.0287x + 3.3208$, $R^2 = 0.7391$
- ▲ ECOSN, $y = -2E-06x^3 + 9E-05x^4 - 0.0017x^3 + 0.0125x^2 - 0.0252x + 3.3087$, $R^2 = 0.8113$
- × PA, $y = 8E-06x^4 - 0.0004x^3 + 0.0071x^2 - 0.0427x + 3.3881$, $R^2 = 0.8207$

b



- ◆ Control, $y = 0.0007x^3 - 0.0179x^2 + 0.0791x + 6.0605$, $R^2 = 0.8708$
- ECWSN, $y = 7E-06x^6 - 0.0005x^5 + 0.0111x^4 - 0.1252x^3 + 0.6566x^2 - 1.3933x + 7.3207$, $R^2 = 0.8224$
- ▲ ECOSN, $y = 0.0034x^2 - 0.1109x + 7.0563$, $R^2 = 0.8271$
- × PA, $y = -8E-06x^6 + 0.0005x^5 - 0.0125x^4 + 0.1414x^3 - 0.7329x^2 + 1.3742x + 6.0012$, $R^2 = 0.9921$

c

1283

1284

1285

1286

1287

Fig.4

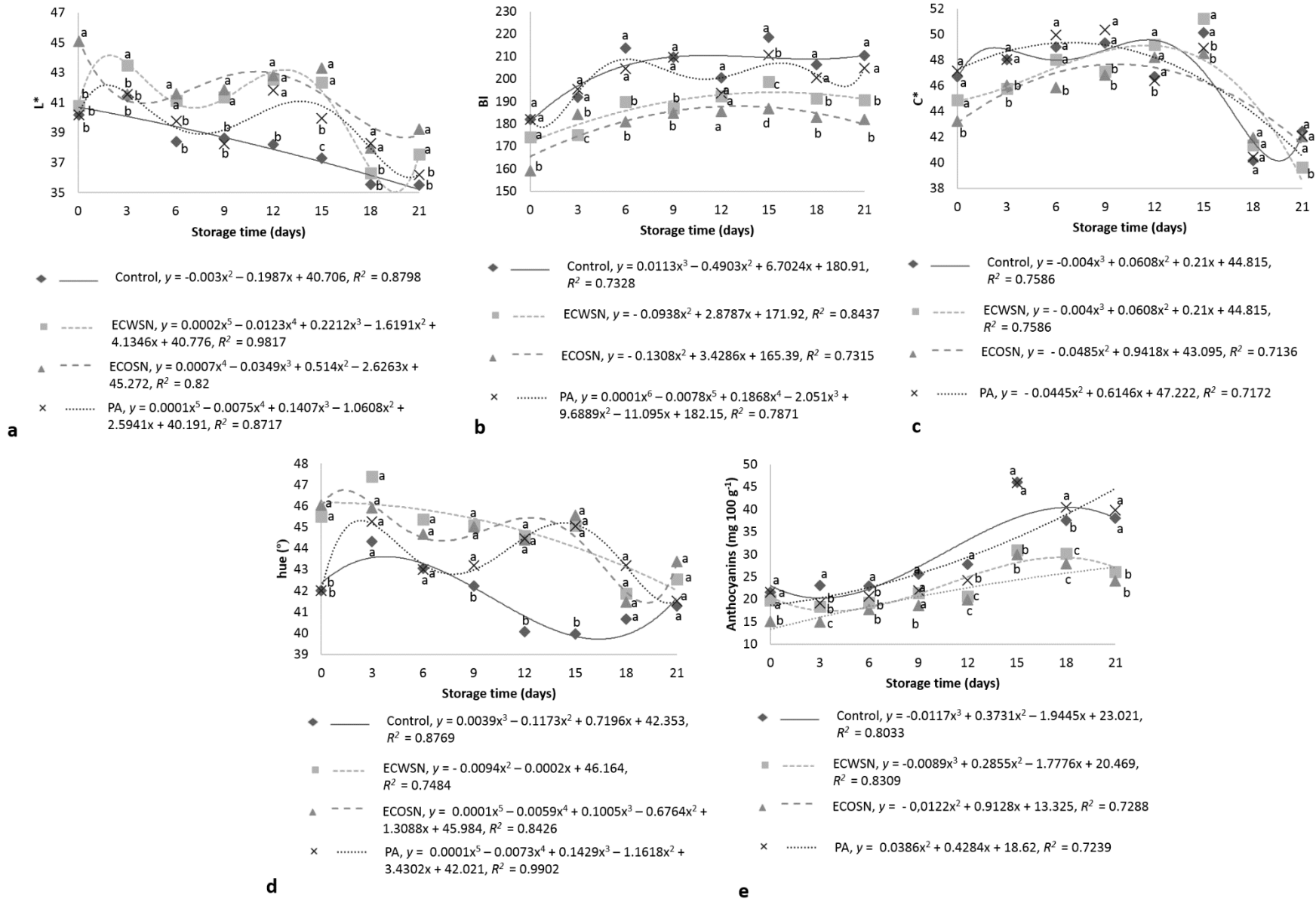


Fig.5

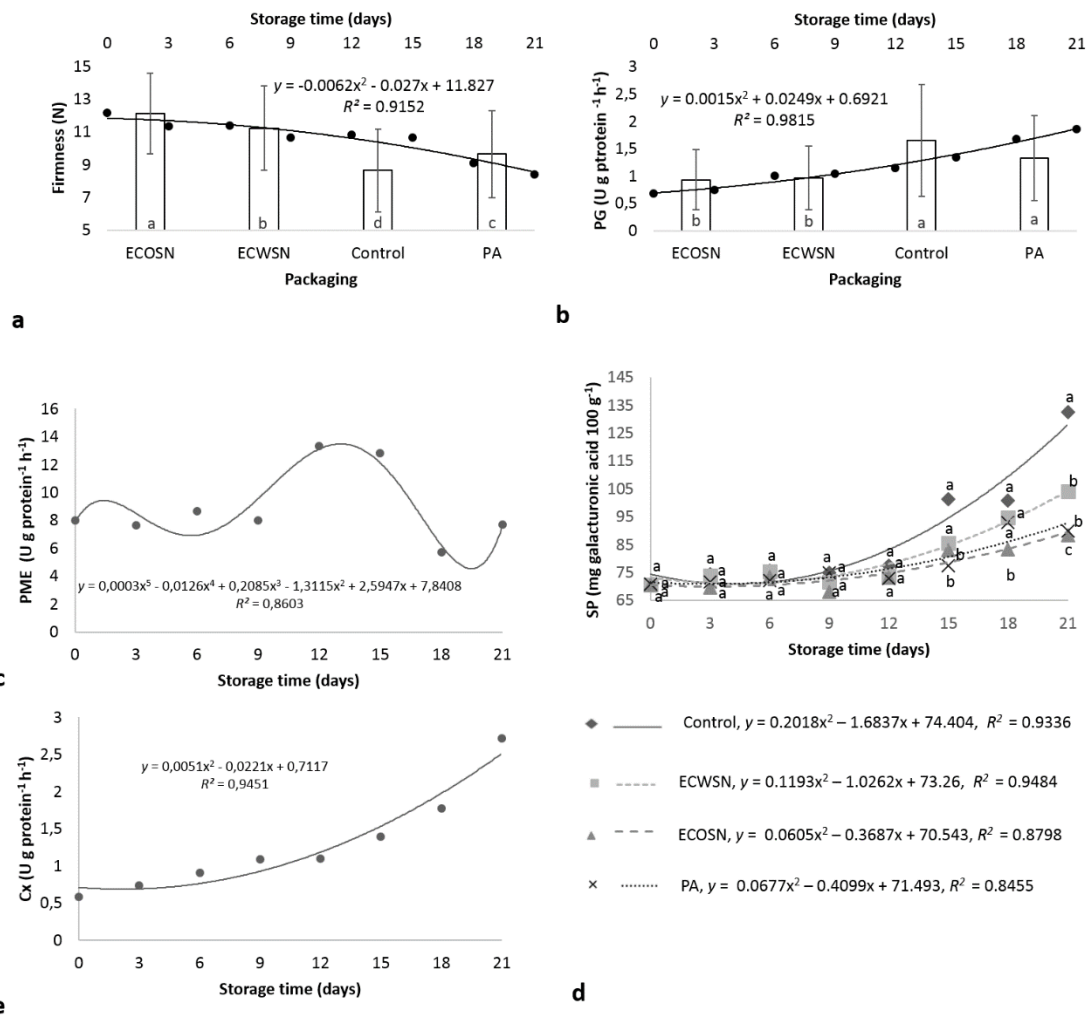


Fig.6

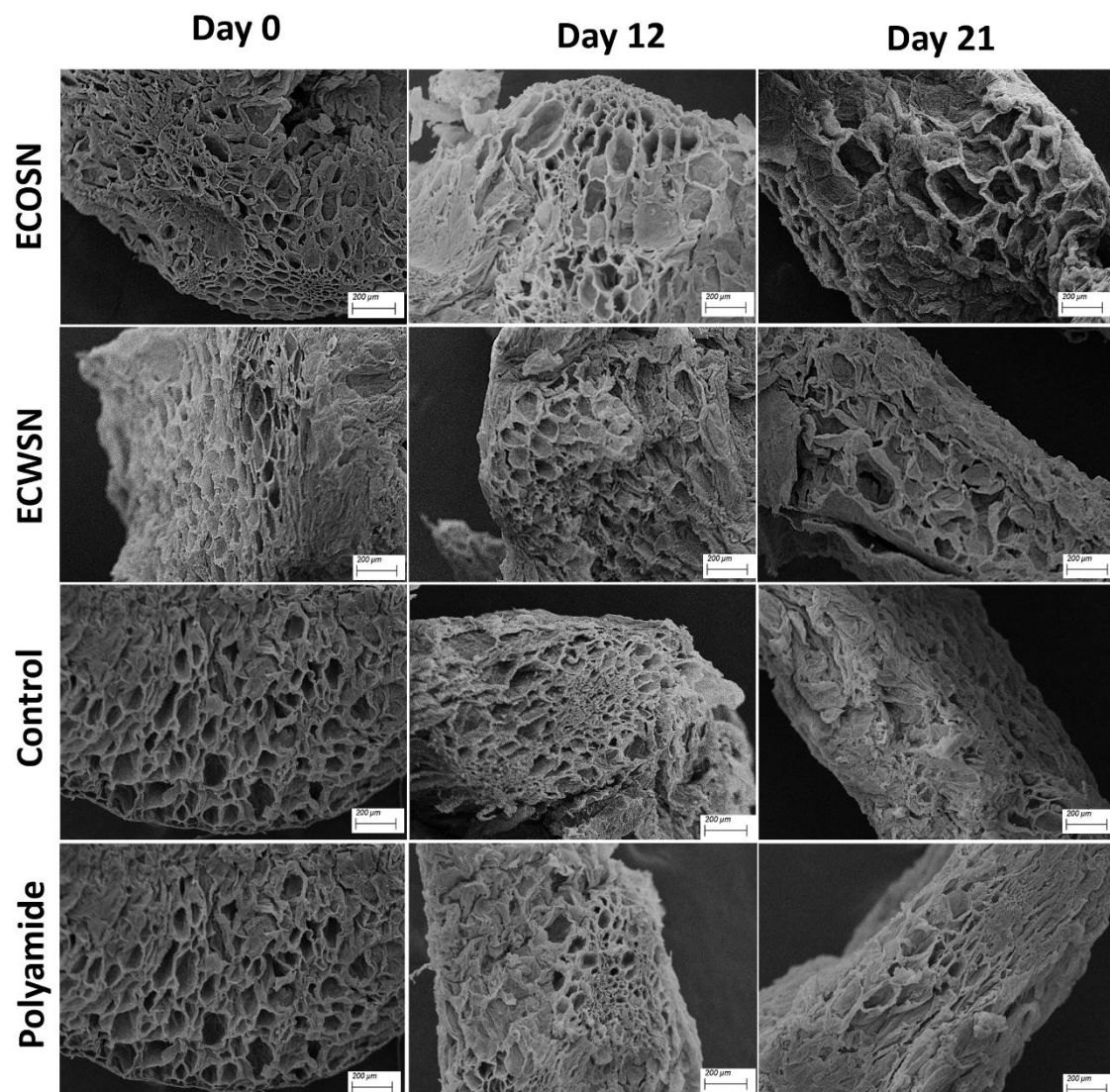


Fig.7

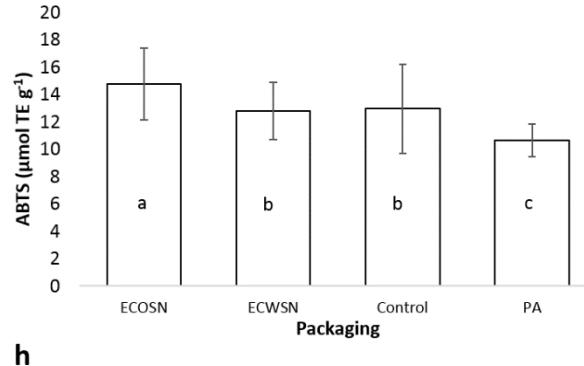
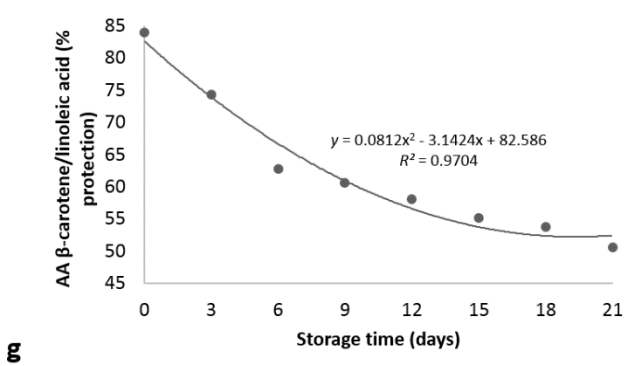
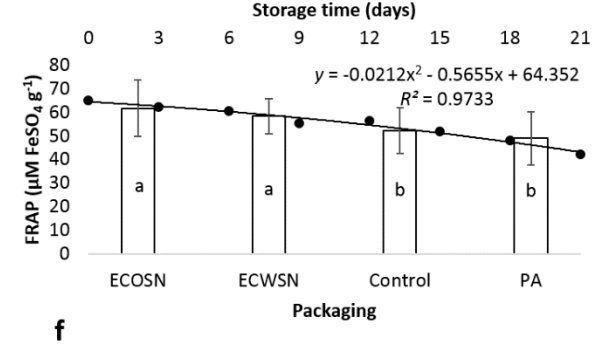
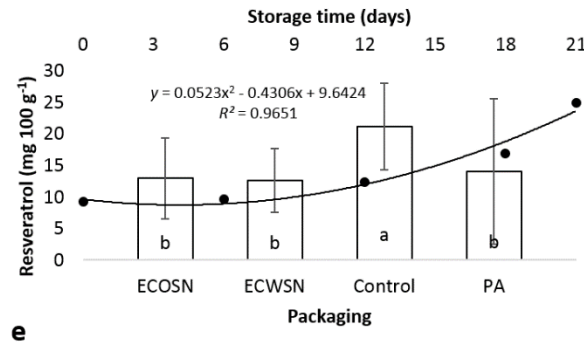
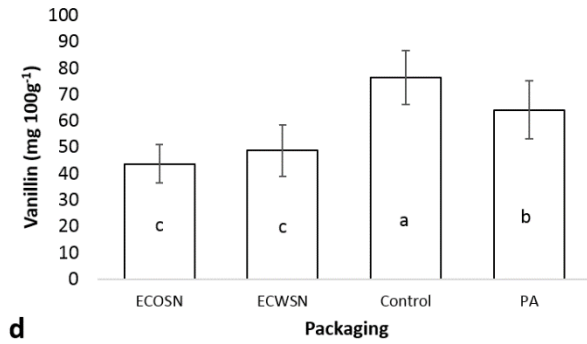
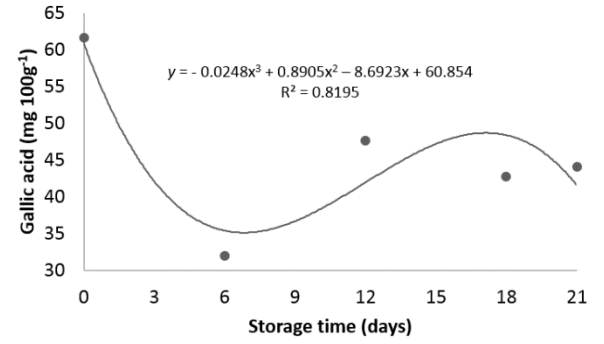
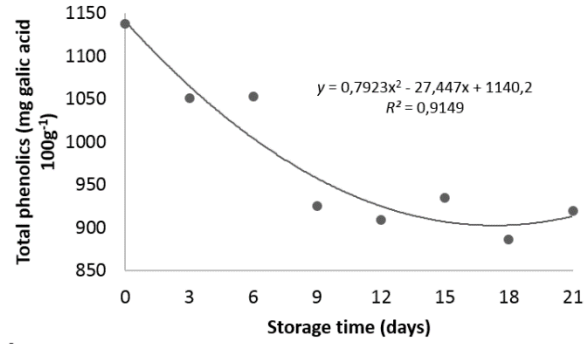
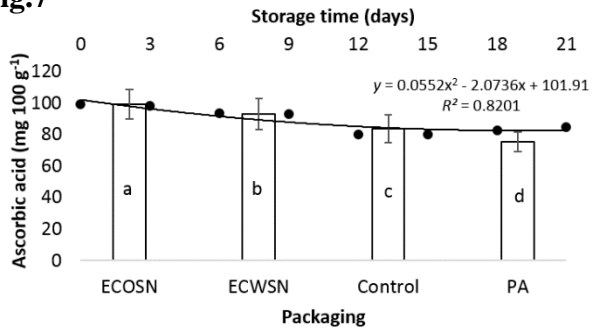
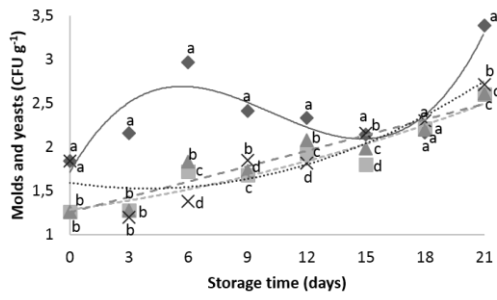
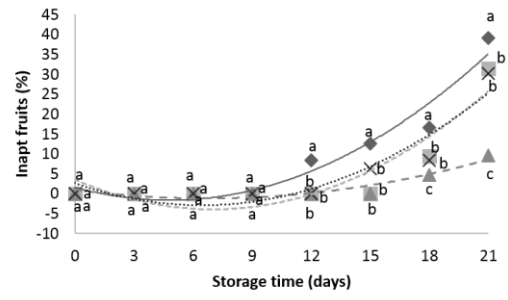


Fig.8



- ◆ — Control, $y = 0.0016x^3 - 0.0484x^2 + 0.3966x + 1.712$, $R^2 = 0.8408$
- - - - ECWSN, $y = 0.0013x^2 + 0.0312x + 1.2842$, $R^2 = 0.9072$
- ▲ - - - ECOSN, $y = 6E-05x^2 + 0.0577x + 1.2563$, $R^2 = 0.9028$
- × PA, $y = 0.0042x^2 - 0.0335x + 1.5942$, $R^2 = 0.8407$

a



- ◆ — Control, $y = 0.1398x^2 - 1.337x + 1.5933$, $R^2 = 0.9481$
- - - - ECWSN, $y = 0.1515x^2 - 2.1218x + 3.5246$, $R^2 = 0.8518$
- ▲ - - - ECOSN, $y = 0.0477x^2 - 0.6397x + 1.0042$, $R^2 = 0.8996$
- × PA, $y = 0.1331x^2 - 1.7149x + 2.6504$, $R^2 = 0.8834$

b

Fig. 10

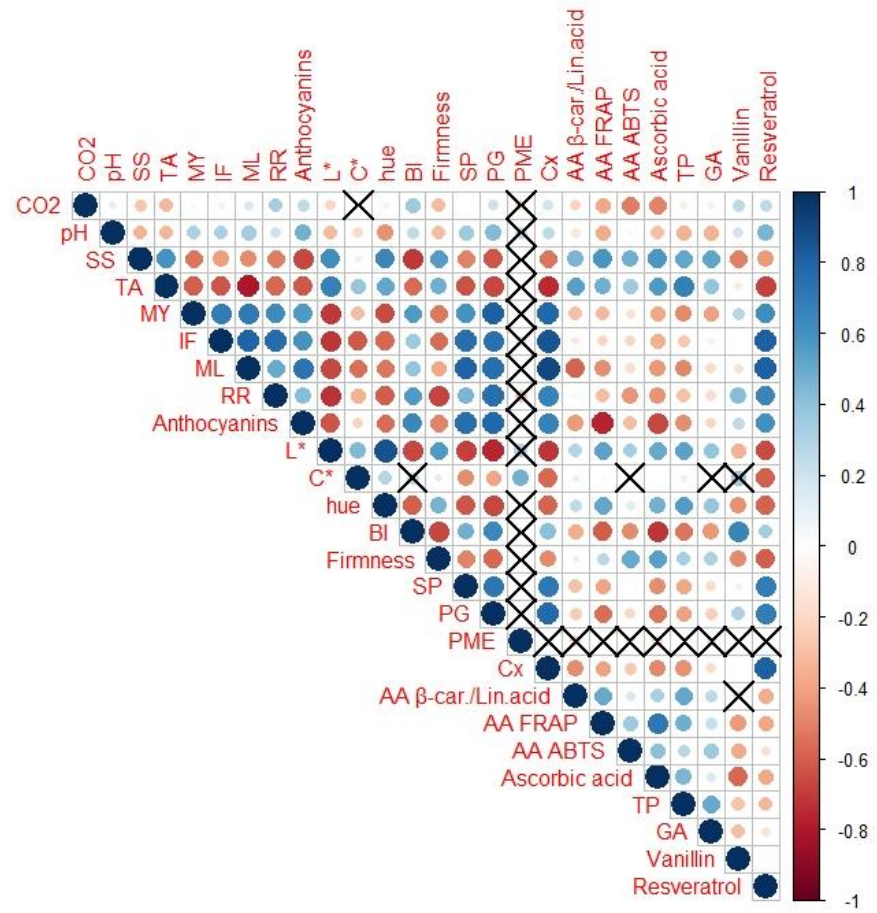


Tabela 1

PCA-loadings

Variable	PC1	PC2
CO₂	0.31	-0.39*
pH	0.47	-0.03
SS	-0.76*	0.35*
TA	-0.84*	-0.07
MY	0.79*	0.16
IF	0.78*	0.43*
ML	0.85*	0.44*
RR	0.74*	-0.03
Anthocyanins	0.83*	-0.04
L*	-0.86*	-0.01
C*	-0.39	-0.69*
hue	-0.78*	0.06
BI	0.74*	-0.54*
Firmness	-0.67*	0.26
SP	0.79*	0.32
PG	0.89*	0.12
PME	-0.03	-0.22
Cx	0.86*	0.36*
AA β-car./Lin.acid	-0.47	-0.03
AA FRAP	-0.65	0.35*
AA ABTS	-0.40	0.50*
Ascorbic acid	-0.69*	0.42*
TP	-0.63	0.19
GA	-0.38	0.33
Vaniliin	0.34	-0.78*
Resveratrol	0.79*	0.35*

Médias marcadas com * indicam correlação significativa com PC ($p < 0.05$). SS: *soluble solids*; TA: *titratable acidity*; MY: *molds and yeasts*; IF: *inapt fruits*; ML: *mass loss*; RR: *respiration rate*; BI: *browning index*; SP: *soluble pectin*; PG: *poligalacturonase*; PME: *pectinametilsterase*; Cx: *celulase*; AA β -carot./lin.acid: *antioxidant activity β -carotene/linoleic acid method*; AA FRAP: *antioxidant activity FRAP method*; AA ABTS: *antioxidant activity ABTS method*; TP: *total phenolics*; GA: *gallic acid*.

32 *Palavras-chave:* nanofibrilas de celulose; lignificação; perda de água; fenólicos; ácido
33 ascórbico; MEV.

34 **1 Introdução**

35 O mercado de vegetais minimamente processados vem ganhando cada vez mais
36 espaço, devido a maior busca dos consumidores por produtos saudáveis, naturais e com apelo
37 funcional, que sejam viáveis do ponto de vista de conveniência (Hasan et al., 2020; Jideani et
38 al., 2017; Prakash et al., 2018; Ramos et al., 2021; Yousuf et al., 2018). A cenoura (*Daucus*
39 *carota*) se destaca como um dos vegetais mais populares no setor de minimamente
40 processados, devido à sua versatilidade de uso e formas de apresentação ao consumidor, além
41 dos atributos sensoriais, valor nutricional e apelo funcional, destacados pelos teores de ácido
42 ascórbico, fibras, minerais, antioxidantes, flavonoides e outros compostos fenólicos e
43 carotenoides, com destaque para α -caroteno e β -caroteno, considerados pró-vitamina A, e o
44 licopeno (Arscott and Tanumihardjo, 2010; Dias, 2014; Hammaz et al., 2021; Passos et al.,
45 2017; Shigematsu et al., 2018; Villafañe, 2017). Entretanto, os danos causados pelo processo
46 de corte e descasque alteram a integridade das cenouras e acabam por limitar sua qualidade e
47 seu valor nutricional. Podem ser destacados como um dos principais fatores limitantes da
48 qualidade de cenouras minimamente processadas o esbranquecimento da superfície, resultado
49 dos processos de lignificação e desidratação, que causam a perda do aspecto brilhante e
50 alaranjado, característico da cenoura (Chen et al., 2018; Fai et al., 2016; Lai et al., 2013;
51 Sharma et al., 2018).

52 Estratégias para manutenção da qualidade de cenouras minimamente processadas são
53 pensadas. Dentre elas destaca-se o estudo acerca de embalagens, que, além de exercerem
54 barreira a perda de água, podem promover a modificação atmosférica, reduzindo o
55 metabolismo e retardando as conseqüentes reações de oxidação que culminam na perda de
56 qualidade (Odoch et al., 2021; Yousuf et al., 2018). Nesse contexto, o uso de embalagens e
57 revestimentos comestíveis biodegradáveis vem ganhando destaque, devido ao apelo ecológico
58 e às inúmeras possibilidades que esses materiais oferecem, como a extensa lista de
59 alternativas de matérias primas e a possibilidade de carrear substâncias com atividade
60 específica, como antimicrobianos e antioxidantes; para além disso, diferentes matrizes podem
61 ser combinadas, a fim de otimizar as propriedades e os efeitos benéficos dos materiais
62 elaborados (Galgano et al., 2015; Hassan et al., 2018; Liu et al., 2020; Sharma et al., 2019;
63 Tavassoli-Kafrani et al., 2020). Por exemplo, tem-se a combinação de polissacarídeos, como o
64 amido, que apresentam boas propriedades de barreira a gases, com nanofibrilas celulósicas

65 (NFC's) que conferem rigidez e reduzem a hidrofiliçidade dos materiais (Rajinipriya et al.,
66 2018; Sharma et al., 2019; Thakur et al., 2019; Xu et al., 2020).

67 Em estudos prévios (Lago et al., 2021, 2020), bionanocompósitos à base de amido de
68 mandioca reforçados com NFC's obtidas a partir de palhas de aveia e trigo foram
69 desenvolvidos e testados quanto às propriedades mecânicas e de barreira, tendo exibido bom
70 desempenho, como alta rigidez e hidrofiliçidade reduzida, sinalizando potencial para
71 aplicação como revestimento comestível.

72 Sendo assim, com o intuito de testar a viabilidade de aplicação dos materiais
73 elaborados como revestimento comestível e desenvolver alternativas biodegradáveis para a
74 manutenção da qualidade pós-colheita de cenouras, o objetivo desse estudo foi avaliar os
75 efeitos da aplicação de bionanocompósitos à base de amido de mandioca reforçados com
76 NFC's de palha de aveia e trigo como revestimento comestível sobre a qualidade de cenouras
77 minimamente processadas ao longo do armazenamento refrigerado.

78 **2 Material e métodos**

79 **2.1 Aquisição da matéria prima**

80 As cenouras e o amido de mandioca foram adquiridos no comércio local de Lavras,
81 MG, Brasil. A solução de sorbitol foi adquirida de Dinâmica®, Piracicaba, SP, Brasil. As
82 palhas de aveia e trigo utilizadas para o preparo das nanofibrilas foram cedidas pela SL
83 Alimentos/LTDA e pela EPAMIG/Fazenda experimental de Lavras, MG, Brasil,
84 respectivamente. Já as embalagens de polipropileno e de PEBD foram adquiridas de
85 fornecedores padrão.

86 **2.2 Preparo das soluções filmogênicas**

87 Soluções filmogênicas contendo 3 % (m/v) de amido de mandioca e 30 % (em relação
88 ao peso do amido) foram preparadas, segundo Guimarães et al. (2015). Após a gelatinização
89 do amido (80 ° C, 20 min., 750 rpm), duas soluções distintas foram preparadas; a uma,
90 adicionou-se 50% (m/v) de gel de nanofibrilas de palha de aveia e a outra, 30% (m/v) de gel
91 de nanofibrilas de palha de trigo. Os géis de nanofibrilas foram obtidos por tratamento
92 alcalino das palhas, seguido por passagens consecutivas em microfibrilador; as concentrações
93 utilizadas foram as que resultaram em melhores desempenhos em ensaios mecânicos e de
94 propriedades de barreira (Lago et al., 2021, 2020).

95 **2.3 Revestimento das cenouras**

106 Após a aquisição, as cenouras foram transportadas à Planta Piloto de Processamento
107 Mínimo de Vegetais, do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA), da Universidade
108 Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG, Brasil. Inicialmente, foram lavadas com água
109 corrente e detergente neutro, para remoção de sujidades, seguido de sanitização com
110 hipoclorito de sódio (NaClO) a 200 ppm, por 15 min. Em seguida, as cenouras tiveram as
111 cascas removidas, com auxílio de descascador manual e foram cortadas, em rodela de
112 aproximadamente 0.5 cm, com auxílio de processador mecânico, sendo submetidas a uma
113 segunda higienização com NaClO, a 50 ppm, por 5 min. Após a segunda higienização, as
114 fatias de cenoura foram imersas nas soluções filmogênicas por 5 min., drenadas sob superfície
115 telada e mantidas à 5°C/90% de umidade relativa, até completa secagem da solução
116 filmogênica (8 h). As fatias de cenoura revestidas foram, então, acondicionadas em
117 embalagens de polipropileno (PP), de 3,5 x 11,5 x 15 cm, fechadas com tampa de encaixe do
118 mesmo polímero. Cenouras não revestidas foram submetidas às mesmas condições das
119 revestidas, substituindo-se o revestimento por água destilada e acondicionadas em embalagens
120 de PP. Enquanto a embalagem do grupo controle foi fechada por tampa de encaixe do mesmo
121 polímero, um segundo grupo de cenouras não revestidas teve suas embalagens de PP seladas
122 com polietileno de baixa densidade (PEBD) de 60 micrômetros. Após embalagem, as
123 cenouras foram armazenadas em câmara fria, à $5 \pm 1^\circ \text{C}$ e $90 \pm 5 \%$ de umidade relativa, por
124 28 dias.

115 **2.4 Delineamento experimental**

116 Foi utilizado um Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com fatorial 4 x 5,
117 sendo 4 níveis do fator revestimento (cenouras revestidas com bionanocompósitos a base de
118 amido de mandioca reforçados com nanofibrilas de palha de aveia (ECOSN), cenouras
119 revestidas com bionanocompósitos a base de amido de mandioca reforçados com nanofibrilas
120 de palha de trigo (ECWSN), cenouras sem revestimento armazenadas em embalagem PP
121 selada com PEBD (PEBD) e cenouras sem revestimento armazenadas em embalagem PP com
122 tampa de encaixe (controle)) e 5 níveis do fator tempo de armazenamento (0, 7, 14, 21 e 28
123 dias), em três repetições. Cada repetição era composta por três embalagens com 100 g de
124 cenouras cada. Na Fig. (1 a) são mostradas imagens das cenouras nos diferentes tratamentos.

125 **2.5 Análises**

126 As variáveis perda de massa, firmeza, análise microestrutural, taxa respiratória, CO_2
127 no *heaspace*, coloração, pH, sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT) e análises

128 microbiológicas foram avaliadas nas cenouras frescas, a cada tempo de armazenamento. As
129 demais análises foram realizadas nas amostras previamente homogeneizadas, congeladas
130 em N₂ líquido e armazenados em freezer a -80°C.

131 **2.5.1 Parâmetros gerais de qualidade**

132 Como parâmetros gerais de qualidade de cenouras minimamente processadas foram
133 considerados a taxa respiratória, o teor de CO₂ no *headspace*, a perda de massa e os teores de
134 pH, acidez titulável, sólidos solúveis e açúcares redutores.

135 O teor de CO₂ foi mensurado com auxílio do analisador de gases PBI Dansensor
136 Checkpoint 9900 (PBI-Dansensor A / S, Ringsted, Dinamarca). Para o monitoramento do teor
137 de CO₂ no interior das embalagens (*headspace*), a sonda era inserida na tampa/revestimento
138 das embalagens, antes da abertura, e o valor de CO₂ produzido era obtido, em porcentagem.
139 Para a taxa respiratória, amostras de cenouras de cada repetição eram acondicionadas em
140 frascos de vidro hermeticamente fechados, mantidos na câmara fria, sob as mesmas condições
141 de armazenamento, e as leituras eram realizadas após o período de três horas. Os resultados
142 foram expressos em mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹.

143 A perda de massa das cenouras ao longo do tempo de armazenamento foi avaliada por
144 meio de pesagem das embalagens em balança analítica, considerando a massa inicial (no
145 tempo 0) e a massa a cada tempo de armazenamento, conforme Eq.(1). Embalagens
146 exclusivas para a análise foram utilizadas, sendo pesadas sempre as mesmas amostras, a cada
147 tempo de avaliação.

$$148 \text{ Perda de massa (\%)} = \frac{M_i - M_f}{M_i} \times 100$$

149 Eq.(1)

150 Em que: *M_i*: massa inicial (tempo 0); e *M_f*: massa final (correspondente a cada tempo de
151 armazenamento avaliado).

152 O pH foi medido em potenciômetro (Tecnal TEC-3MP), o teor de acidez titulável foi
153 determinado por titulação com solução de NaOH 0.1M, utilizando como indicador a
154 fenolftaleína e o teor de sólidos solúveis (SS) foi determinado por refratometria em
155 refratômetro digital (Atago PAL-1, Tokyo, Japan) (AOAC INTERNATIONAL, 2016). As
156 determinações foram feitas em homogenato filtrado. O teor de açúcares redutores foi

157 determinado pelo método de ácido dinitrosalicílico (ADNS), utilizando extrato etanólico e a
158 glicose (10 – 1000 µg mL⁻¹) como padrão, segundo Muley and Singhal (2020).

159 2.5.2 Coloração e teor de carotenoides

160 A coloração das cenouras foi avaliada com auxílio do colorímetro Konica Minolta CR-
161 400, iluminante D65, com determinação das variáveis L*, a*, b*, Croma (C*) e ângulo hue. A
162 coloração foi medida em lados opostos das fatias de cenoura, em duas regiões distintas, região
163 central e região lateral (Fig. (1 b)). Os valores de L*, a* e b* foram utilizados para o cálculo
164 do índice de esbranquecimento, ou *whiteness index* (WI), conforme a Eq. (2).

$$165 \quad WI = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

166 Eq. (2)

167 Para a avaliação do teor de carotenoides totais foi utilizada a metodologia proposta por
168 Rodriguez-Amaya (2001). Em resumo, 5 g de produto congelado foram homogeneizados com
169 20 mL de acetona PA e submetidos a agitação, por 20 min. Em seguida, o produto foi filtrado
170 em papel filtro e o resíduo lavado com acetona PA até completa descoloração. O produto
171 obtido da lavagem do resíduo foi combinado com éter de petróleo (30 mL) + água destilada
172 (100 mL), em funis de separação. Após a separação das fases, a fração polar (acetona + água)
173 era recolhida e descartada, sendo o processo repetido por três vezes, para completa remoção
174 da acetona. Após esse procedimento, o extrato etílico obtido foi completado para 50 mL com
175 éter de petróleo e as leituras realizadas em espectrofotômetro a 444 nm, 450 nm, 465 nm, 462
176 nm e 470 nm, absorvâncias correspondentes a α-caroteno, β-caroteno, δ-caroteno, γ-caroteno
177 e licopeno, respectivamente. O resultado foi expresso como teor de carotenoides totais (µg
178 100 g⁻¹) e calculado conforme a Eq. (3).

$$179 \quad \text{Carotenoides totais } (\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}) = \frac{A \times V \times 106}{A1cm1\% \times M \times 100}$$

180 Eq. (3)

181 Em que: A: absorvância da solução no comprimento de onda específico; V: volume final da
182 solução; A1cm1%: coeficiente de extinção ou coeficiente de absorvidade molar de um
183 pigmento em um determinado solvente específico, no caso o éter de petróleo e; M: massa da
184 amostra tomada para a análise, em g.

185 2.5.3 Parâmetros texturais

186 A firmeza das fatias de cenoura foi mensurada com auxílio de penetrômetro Magness
 187 – Taylor. Fatias de cenoura foram perfuradas com sonda de 3 mm de diâmetro em duas
 188 regiões distintas, região central e região lateral, paralelas ao corte. Os resultados foram
 189 expressos em N.

190 Para avaliação da atividade das enzimas de amaciamento, poligalacturonase (PG),
 191 pectinametilesterase (PME), β -galactosidase (β -gal.) e celulase (Cx), extratos enzimáticos
 192 foram preparados segundo Wang et al. (2020), com pequenas modificações. Dez gramas do
 193 tecido congelado foram mixados com 10 mL de tampão Tris-HCl 50 mmol L⁻¹ (pH= 7.0),
 194 sendo submetidos à centrifugação (12,000 x g, 4°C) por 30 minutos. O sobrenadante
 195 (extrato bruto) foi recolhido e armazenado a 4°C, até a realização das análises. O teor de
 196 proteína dos extratos enzimáticos foi determinado segundo técnica de Bradford (1976). A
 197 atividade enzimática, para as quatro enzimas, foi expressa em U g de proteína⁻¹ h⁻¹. A
 198 unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima capaz de
 199 liberar 1 μ mol de ácido galacturônico (PG), grupos carboxílicos (PME), nitrofenol (β -gal.)
 200 ou açúcares redutores (Cx). As leituras foram realizadas em leitor de microplacas (EZ Read
 201 2000), em triplicata.

202 Para a determinação da atividade de PG, utilizou-se metodologia adaptada por Wang
 203 et al. (2020), com mínimas modificações. Alíquotas de 0,5mL de extrato bruto foram
 204 combinadas com 1,0mL de tampão acetato 50mmol L⁻¹ (pH= 5,5) contendo 0,5% (p/v) de
 205 ácido poligalacturônico, como substrato. Um controle foi feito para cada amostra, utilizando-
 206 se tampão acetato isento de substrato. Após incubação à 37°C por 1 h, foram adicionados às
 207 misturas 1,5 mL de solução DNS (1% 3,5 ácido dinitrosalicílico e 30% de tartarato de sódio e
 208 potássio em 0,4 mol L⁻¹ de NaOH). A reação foi interrompida pela adição dos tubos em
 209 banho maria fervente, por 5 min. Após arrefecimento em temperatura ambiente, foram
 210 adicionados aos tubos 25 mL de água destilada e realizada as leituras a 540 nm.

211 A atividade de PME foi determinada conforme Verma et al. (2015). Quinze mililitros
 212 de solução de NaCl 0.15 M contendo 0,25% (m/v) de pectina cítrica foram adicionados a 200
 213 μ L do extrato enzimático. O volume foi completado para 30 mL com água destilada e o pH
 214 ajustado a 8.0 com NaOH 0.1M. Após incubação a 30°C por 1 h, as soluções foram tituladas
 215 com NaOH 0.1 M até viragem de cor, utilizando como indicador a fenolftaleína. O volume de
 216 NaOH utilizado na titulação foi anotado e utilizado para o cálculo, conforme a Eq. (4).

$$217 \quad PME \text{ (unidades mL}^{-1}\text{)} = \frac{(mL \text{ NaOH}) \times (molaridade \text{ NaOH}) \times (1000)}{(tempo \text{ (h)}) \times (volume \text{ amostra (mL)})}$$

Eq. (4)

218

219 A atividade da β -Gal foi determinada segundo Wang et al. (2020). Um mililitro de
220 tampão acetato (pH = 5.5) contendo 0.5% (m/v) de p-nitrofenil- β -D galactopiranosídeo foi
221 adicionado a 1mL do extrato enzimático. Após incubação a 37°C por 30 min., a reação foi
222 interrompida com a adição de solução de Na_2CO_3 0.2 mol L⁻¹. A absorbância das soluções foi
223 medida a 400 nm.

224 Por fim, a atividade de Cx foi determinada combinando 1,5 mL de solução de
225 carboximetilcelulose de sódio (CMC) [10 g L⁻¹ em tampão acetato (pH = 5.5)] e 0,5 mL do
226 extrato enzimático. O procedimento adotado foi o mesmo que para a determinação de PG,
227 utilizando reagente DNS (Wang et al., 2020). Nesse caso, o controle consistia em 0,5 mL de
228 extrato enzimático submetido a banho maria fervente por 5 min.

229 O teor de pectina solúvel foi quantificado segundo técnica de Blumenkrantz and
230 Asboe-Hansen (1973). Os extratos foram preparados segundo McCready and McComb
231 (1952). Em resumo, 5 g do tecido congelado foram mixados com 45 mL de etanol 95% (m/v)
232 e submetidos a agitação por 1 h. Após repouso *overnight*, o conteúdo foi filtrado em papel
233 filtro e lavado com 2 x de 50 mL de etanol 95% (m/v). O resíduo das filtragens foi combinado
234 com 50 mL de água destilada, agitado novamente, por 1 h e filtrado, constituindo o extrato.
235 Para a determinação, 3 mL de solução de ácido sulfúrico/tetraborato de sódio (0.125 M)
236 foram adicionados a 1 mL do extrato, em banho de gelo. Após 10 min. de fervura em banho-
237 maria e posterior arrefecimento em banho de gelo, foram adicionados 100 μL de carbazol e os
238 tubos foram levados novamente a banho-maria fervente, por 15 min. Após arrefecimento em
239 banho de gelo, procedeu-se a leitura, a 530 nm.

240 Para análise microestrutural, tiras de amostras das regiões central e lateral das fatias de
241 cenoura eram retiradas, com auxílio de lâminas, e inseridas em microtubos contendo fixador
242 Karnovsky modificado, sendo mantidas até o momento do preparo das amostras. Para o
243 preparo dos espécimes, as amostras foram fraturadas em nitrogênio líquido e submetidas à
244 desidratação em gradiente de acetona, seguida pela secagem em aparelho de ponto Crítico
245 (Bal-Tec). Em seguida, os espécimes foram montados em *stubs*, submetidos à metalização em
246 aparelho evaporador de ouro (Sputtering) (Bal-Tec) e observados em microscópio eletrônico
247 de varredura (MEV) LEO EVO 40 XVP, no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise
248 Ultra-estrutural (LME), do Departamento de Fitopatologia, da UFPA. Foram obtidas imagens
249 das amostras nos tempos de avaliação 0, 14 e 28 dias.

250 **2.5.4 Ácido ascórbico, fenólicos totais, perfil de fenólicos e atividade antioxidante**

251 O teor de ácido ascórbico das cenouras foi determinado segundo Muley and Singhal
252 (2020), com mínimas modificações. Cinco gramas de tecido congelado foram mixados com
253 20 mL de solução de ácido metafosfórico a 2% (m/v). Após centrifugação por 8 min. à 4°C e
254 7,195 x g, removeu-se o sobrenadante, considerado o extrato. Cem microlitros do extrato
255 foram combinados com 186 µL de corante 2,6-di-clorofenol indofenol (DFI) a 0,1% (m/v) e,
256 após 3 min. de incubação em ambiente escuro, foi realizada a leitura em leitor de microplacas
257 (EZ Read 2000) a 518 nm. Os resultados foram comparados com uma curva analítica de ácido
258 ascórbico (20 µg -100 µg) e expressos em mg ácido ascórbico 100 g⁻¹.

259 Os extratos para a determinação de atividade antioxidante e fenólicos totais foram
260 preparados segundo Zitha et al. (2021), com algumas modificações. Em resumo, 2,5g de
261 tecido congelado das cenouras foram mixados com 10 mL de metanol 50% (v/v) e submetidos
262 a banho ultrassônico (4°C, por 1 h.). Em seguida, a solução foi centrifugada a 25,400 x g, por
263 15 min. a 4°C. O sobrenadante foi reservado e o resíduo re-extraído com 10 mL de acetona
264 70% (v/v), sob as mesmas condições. No final do processo, os sobrenadantes resultantes das
265 duas extrações foram combinados, constituindo o extrato.

266 O teor de fenólicos totais das cenouras foi avaliado pelo método de Fast blue, proposto
267 por Medina (2011). Em resumo, 20 µL de sal de diazônio Fast Blue 0,01% (m/v) foram
268 adicionados a 200 µL do extrato, em microplacas. Após a adição de mais 20 µL de NaOH
269 5%, as soluções foram incubadas por 1 h em ambiente escuro. Em seguida, procedeu-se a
270 leitura em leitor de microplacas (EZ Read 2000), a 420 nm. Os resultados foram comparados
271 com uma curva analítica de ácido gálico (20 µg – 400 µg) e expressos em mg ácido gálico
272 100 g⁻¹.

273 Para a avaliação de fenólicos individuais, extratos foram preparados conforme Cunha et
274 al. (2021). Em resumo, 2,5g de amostra foram mixados com 20 mL de metanol grau HPLC
275 70% (v/v) e incubados durante 1 h em banho ultrassônico, à temperatura ambiente. O extrato
276 obtido foi centrifugado (25.406,55 x g, 4° C) durante 15 min. e posteriormente filtrado em papel
277 de filtro com porosidade 14µm. Para a injeção das amostras, os extratos foram novamente
278 filtrados utilizando-se filtros de membrana porosa com 0,45 µm. A quantificação e identificação
279 dos compostos fenólicos foram realizadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC-
280 DAD/UV-Vis) modelo Shimadzu (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) equipado com quatro
281 bombas de alta pressão (modelo LC-20AT), com um detector de arranjo de diodos (modelo

282 SPD-M20A), desgaseificador (modelo DGU-20A5), interface de CBM-20A, forno CTO-20AC
283 e amostrador automático (modelo SIL-20A). As separações foram realizadas usando uma
284 coluna Shimadzu Shim-pack ODS GVP-C18 (4,6 x 250 mm, 5 mm) ligada a uma pré-coluna
285 (Shimadzu-pack ODS GVP-C18, 4,6 x 10 mm, 5µm). A fase móvel consistiu de 2% (v/v) de
286 ácido acético em água deionizada (Fase móvel A) e 70:28:2 (v/v) de metanol/água/ácido acético
287 (Fase móvel B), a uma taxa de fluxo de 1,0 mL.min⁻¹ com um programa de eluição de gradiente
288 e tempo de execução de 65 minutos. O volume de injeção foi de 20 µL. As análises foram
289 realizadas a 15°C. Os compostos fenólicos foram detectados a 280 nm. As soluções padrão
290 foram diluídas em metanol e as curvas de calibração foram obtidas a partir de injeções de dez
291 concentrações diferentes, em duplicata. Os compostos fenólicos foram identificados por
292 comparação dos tempos de retenção com os padrões (ácido gálico, catequina, ácido
293 clorogênico, ácido cafeico, ácido ferulico, vanilina, ácido tans-cinâmico, ácido m-cumárico,
294 ácido p-cumárico, ácido o-cumárico e resveratrol). Os resultados foram expressos em mg do
295 composto fenólico 100g⁻¹ da amostra.

296

297 A atividade antioxidante das cenouras foi avaliada por três metodologias distintas,
298 método de ABTS (Zitha et al., 2021), sistema β-caroteno ácido linoleico (Zitha et al., 2021) e
299 *Ferric reducing antioxidant power* (FRAP) (Jiao et al., 2019). Os ensaios foram realizados em
300 triplicada e as leituras realizadas em leitor de microplacas (EZ Read 2000).

301 Para a determinação da atividade antioxidante pelo método de ABTS, solução de
302 radical (ABTS^{•+}) foi preparada combinando 7mM de persulfato de potássio e 2.5 mM de
303 solução ABTS, sendo a mistura mantida em repouso por 16 h, em ambiente escuro e
304 temperatura ambiente. Após esse período, a mistura de radical foi diluída em etanol, até
305 absorvância de 0.70 ± 0.05 , a 734 nm. Alíquotas de 297 µL da solução radical foram
306 combinadas com 3 µL de extrato antioxidante das amostras e, após 6 min. de reação, foi
307 realizada a leitura a 734 nm. Os resultados foram comparados a uma curva analítica de trolox
308 (0 µM – 200 µM) e expressos em µM de equivalente trolox (ET) g⁻¹.

309 Na avaliação pelo sistema β-caroteno/ácido linoleico, 50 µL de solução de β-
310 caroteno/clorofórmio (1mg mL⁻¹) foram combinados com 40 µL de ácido linoleico e 530 µL
311 de Tween 40, sendo dissolvidos em 1 mL de clorofórmio. Em seguida, o clorofórmio foi
312 evaporado da solução, a vácuo, com auxílio de oxigenador, e a mistura resultante foi diluída
313 em água oxigenada até absorvância de 0,6 – 0,7 a 470 nm, obtendo-se a solução sistema de β-

314 caroteno/ácido linoleico. Em seguida, alíquotas de 270 µL da solução sistema foram
 315 adicionadas em microplacas contendo 20 µL dos extratos antioxidantes das amostras, sendo
 316 realizada a leitura, a 470 nm, obtendo-se os valores de absorvância inicial (*Abs. Inicial*). Após
 317 incubação por 2 h em banho maria a 40 °C, foi realizada a segunda leitura, com a obtenção
 318 dos valores de absorvância final (*Abs. Final*). A % de inibição da descoloração do sistema β-
 319 caroteno (%proteção) foi então calculada segundo a Eq. (5) e Eq. (6).

$$320 \quad \% \text{ oxidação} = \frac{(\text{Abs. inicial} - \text{Abs. final})_{\text{amostra}} \times 100}{(\text{Abs. inicial} - \text{Abs. final})_{\text{sistema}}}$$

321 Eq. (5)

$$322 \quad \% \text{ proteção} = 100 - (\% \text{ oxidação})$$

323 Eq. (6)

324

325 Já para a determinação pelo método de FRAP, alíquotas de 9 µl de extratos
 326 antioxidantes das amostras foram combinadas com 27 µL de água destilada e 264 µL de
 327 solução FRAP (contendo TPTZ, cloreto férrico e tampão acetato). Após incubação em banho
 328 maria à 37 °C por 30 min., a leitura das absorvâncias das amostras foi realizada a 595 nm. Os
 329 resultados foram calculados com base em uma curva analítica de sulfato ferroso (FeSO₄) (500
 330 µM a 2000 µM) e expressos em µM FeSO₄ g⁻¹.

331 **2.5.5 Microbiológicas**

332 As cenouras foram avaliadas microbiologicamente, ao longo do armazenamento,
 333 (*Salmonella* sp., coliformes totais e bolores e leveduras).

334 A presença de *Salmonella* sp. foi avaliada segundo o método MLG/FSIS/USDA:2017
 335 (United States Department of Agriculture (USDA), 2017). Em resumo, 2.5 g de amostra
 336 foram pesados e adicionados a erlenmeyers contendo 225 ml de água tamponada, sendo
 337 incubados, a 37 °C, por 18 h. Posteriormente, foi realizado o enriquecimento da amostra
 338 utilizando-se os caldos tetrionato e rapaport, com incubação, a 37 °C, por 24 h. O
 339 plaqueamento foi realizado em meio Hektoen Enteric Agar, seguido de incubação a 37 °C,
 340 por 24 h. Colônias suspeitas foram isoladas e transferidas para tubos contendo ágar ferro
 341 tríplice açúcar (TSI) e ágar lisina de ferro (LIA), sendo incubados, a 37 °C, por 24 h e,
 342 posteriormente, submetidos a provas bioquímicas.

343 Para a contagem de coliformes totais, foi utilizado o método do número mais provável
344 (NMP) 9:2015 (Kornacki et al., 2015). Em resumo, alíquotas das amostras diluídas em água
345 tamponada eram inseridas em tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), em
346 diluição seriada e incubadas a 35 °C, por 48 h. Após esse período, tubos contendo
347 crescimento e produção de gás eram submetidos ao teste confirmativo de coliformes totais, a
348 saber: alçadas dos tubos contendo LST eram inseridas em tubos contendo Caldo Verde
349 Brilhante 2% (VB) e incubadas a 35 °C, por 48 h. Após esse período, os tubos com
350 crescimento e produção de gás eram considerados positivos para coliformes totais, sendo
351 submetidos à contagem do NMP e os resultados expressos em NMP g⁻¹.

352 Já a contagem de bolores e leveduras foi realizada segundo o método de plaqueamento
353 APHA 21:2015, com contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) (Ryu and Wolf-
354 Hall, 2015). Alíquotas de diluições seriadas das amostras homogeneizadas em água
355 tamponada eram submetidas a plaqueamento em superfície com meio de cultura ágar dicloran
356 rosa de bengala cloranfenicol (DRBC). Após incubação a 25 °C por 5 dias, foram mensurados
357 os números de colônias típicas de bolores e colônias típicas de leveduras (após confirmação
358 microscópica da morfologia das células), sendo a somatória considerada como contagem total
359 e bolores e leveduras e expressa em log UFC g⁻¹.

360 **2.6 Análise estatística**

361 Os dados obtidos foram analisados utilizando teste de médias de Scott Knott ($p <$
362 0.05), regressão polinomial, análise de componentes principais (PCA), clusterização
363 hierárquica e análise de correlação de Pearson, utilizando o software estatístico R Studio
364 (RStudio Team, 2015).

365 **3 Resultados**

366 Na Fig. (2) são mostradas imagens das cenouras minimamente processadas em
367 diferentes tratamentos ao longo do armazenamento.

368 < Fig. (2) >

369 As variáveis estudadas foram influenciadas pelos fatores revestimento e tempo de
370 armazenamento de forma isolada, quando utilizou-se gráficos com teste de médias ou
371 regressão com uma única curva, respectivamente. No caso de interação significativa entre os
372 fatores, os resultados foram apresentados em gráficos que mesclam teste de médias com
373 curvas de regressão.

374 3.1 Parâmetros gerais de qualidade

375 Oscilações nas médias de taxa respiratória foram observadas ao longo do tempo, com
376 aumento nos primeiros 7 dias de armazenamento, seguido de decréscimo até os 21 dias e novo
377 aumento, até o final do armazenamento (Fig. (3 a)). Com relação aos tratamentos, as cenouras
378 armazenadas em embalagem de PEBD exibiram a menor média, enquanto as maiores taxas
379 respiratórias foram notadas para as cenouras revestidas com ECOSN e ECWSN.

380 Independentemente do tratamento, observou-se acúmulo de CO₂ no *headspace*, até o
381 14° dia de armazenamento, seguido de queda (Fig. (3 b)). Diferenças significativas entre os
382 tratamentos só foram notadas no último tempo de armazenamento, quando as cenouras
383 ECOSN e PEBD apresentaram as maiores médias.

384 Observou-se aumento da perda de massa das cenouras, ao longo do armazenamento, a
385 despeito dos tratamentos (Fig. (3 c)). Entretanto, cenouras PEBD exibiram a menor média,
386 dos 14 aos 28 dias, em comparação aos demais tratamentos, que não diferiram entre si. Aos
387 28 dias de armazenamento, cenouras ECOSN e ECWSN apresentaram valores de perda de
388 massa inferiores ao controle, ainda que superiores à PEBD. A perda de massa das cenouras
389 PEBD, ECOSN, ECWSN e controle foi da ordem de 0,2%, 0,86%, 0,75% e 1,2%, no final do
390 armazenamento.

391 Notou-se tendência de redução do pH e aumento da acidez titulável (AT), sólidos
392 solúveis (SS) e açúcares solúveis (AS) das cenouras, durante 28 dias de armazenamento,
393 variáveis não influenciadas pelo fator revestimento (Fig. (3 d, e, f, g)). As alterações mais
394 marcantes no pH e AT ocorreram a partir dos 14 dias, enquanto até os 14 dias de
395 armazenamento, nas variáveis SS e AS. Os diferentes tipos de embalagem não exerceram
396 influência significativa sobre essas variáveis.

397 < Fig. (3) >

398 3.3 Coloração e teor de carotenoides

399 Houve tendência de aumento dos valores de L* ao longo do armazenamento, tanto
400 para a região central como para a região lateral das fatias de cenoura (Fig. (4 a-b)). Cenouras
401 revestidas exibiram as menores médias, para ambas as regiões avaliadas, sendo que aquelas
402 revestidas com ECOSN apresentaram os menores valores de L*. As maiores médias foram
403 observadas para o controle. As médias obtidas para as cenouras PEBD, na região lateral, se
404 igualaram às do controle. Comportamento semelhante foi observado para os valores de WI,

405 que sofreram efeito significativo da interação tempo x tratamento (Fig. (4 c-d). Um fato
406 notável é que, na avaliação da região lateral, as cenouras revestidas com ECOSN
407 apresentaram tendência à estabilização ao longo do armazenamento, havendo aumentos
408 insignificantes das médias.

409 Observou-se tendência de queda de C^* , na região central das cenouras, a despeito do
410 tratamento utilizado (Fig. (4 e)). Já na região lateral, aumento foi notado no C^* de ECOSN,
411 enquanto oscilações foram notadas para os demais tratamentos (Fig. (4 f)). De forma geral,
412 ECOSN determinou as maiores médias de C^* , tanto na região central, quanto lateral das
413 cenouras, ao longo do armazenamento, assim como as menores médias foram observadas, de
414 forma geral, nas cenouras controle, especialmente na região lateral.

415 Em relação ao h° , alterações significativas foram observadas apenas na região central
416 das cenouras. Redução dessa variável foi notada, enfaticamente nos 7 primeiros dias de
417 armazenamento (Fig. (4 g)). Em média, cenouras revestidas apresentaram maiores valores de
418 h° que as não revestidas.

419 Comportamentos distintos dos carotenoides totais foram notados ao longo do
420 armazenamento das cenouras sob os diferentes tratamentos (Fig. (4 h)). Aumento seguido de
421 queda foi observado nas cenouras revestidas, enquanto tendência de aumento foi observado
422 nas cenouras PEBD e pequenas flutuações nas cenouras controle. Não obstante, nenhuma
423 diferença significativa foi observada entre os tratamentos durante o armazenamento, à
424 exceção daquelas observadas no 28º dia, quando as cenouras revestidas apresentaram as
425 menores médias de carotenoides totais, em comparação às cenouras controle e PEBD.

426 < Fig. (4) >

427 **3.4 Alterações texturais**

428 Para a firmeza da região central, observou-se queda dos valores nos primeiros 7 dias
429 de armazenamento, a partir de quando houve uma tendência de aumento até o 21º dia, seguida
430 de nova queda, a despeito do tratamento (Fig. (5 a)). No geral, houve pouca diferença entre os
431 tratamentos, com exceção dos dias 7 e 28, quando se observou maior média para PEBD e
432 menor média para ECOSN, respectivamente. Em relação à firmeza da região lateral, uma
433 tendência linear crescente foi notada para as cenouras controle e PEBD, enquanto que, para as
434 cenouras revestidas, houve tendência de aumento nos primeiros 21 dias de armazenamento,
435 seguida de queda (Fig. (5 b)). ECOSN determinou a maior média de firmeza da região lateral

436 aos 7 dias de armazenamento, enquanto as menores médias foram observadas nas cenouras
437 revestidas, no último dia de armazenamento.

438 Em média, os teores de pectina solúvel foram menores nas cenouras PEBD, em
439 comparação aos demais tratamentos, que não diferiram entre si (Fig. (5 c)).

440 As enzimas de amaciamento β -gal. e Cx não apresentaram variações significativas, em
441 função do revestimento e armazenamento, exibindo médias gerais de $0.21 \pm 0.05 \text{ U g}^{-1}$
442 proteína h^{-1} e $4.26 \pm 2.60 \text{ U g}^{-1}$ proteína h^{-1} , respectivamente. PME e PG também não foram
443 influenciadas pelo revestimento, embora sua atividade tenha reduzido e aumentado,
444 respectivamente, durante o armazenamento (Fig. (5 d, e)).

445 < Fig. (5) >

446 A modificação estrutural da parede celular das cenouras minimamente processadas em
447 diferentes embalagens ao longo do tempo de armazenamento pode ser visualizada pelas
448 micrografias obtidas em MEV (Fig. (6)). No início do armazenamento (tempo 0) é possível
449 visualizar a estrutura com as cavidades e a fronteira entre as células bem delimitadas. Na
450 metade do período de armazenamento (tempo 14), ainda que fosse visível a delimitação entre
451 as células, alterações na estrutura já podiam ser visualizadas, com início da deformação e
452 flacidez, sobretudo na região central das amostras controle. No final do armazenamento
453 (tempo 28) pode-se observar a presença de células deformadas, com desaparecimento da
454 fronteira entre as células e tecido colapsado, sobretudo nas cenouras controle e PEBD. As
455 cenouras revestidas, especialmente aquelas revestidas com ECOSN, alcançaram o final do
456 armazenamento com boa parte da estrutura inicial preservada, sendo ainda visível as
457 delimitações entre as células e o formato regular.

458 < Fig. (6) >

459 **3.5 Ácido ascórbico, fenólicos totais, perfil de fenólicos e atividade antioxidante**

460 Aumento seguido de queda nos teores de ácido ascórbico de cenouras ECOSN e
461 ECWSN foram observados na primeira e segunda metade do armazenamento,
462 respectivamente (Fig. (7 a)). Para as cenouras controle e armazenadas em embalagem de
463 PEBD, oscilações nos valores com tendência à queda foram notadas ao longo do
464 armazenamento. As cenouras revestidas se destacaram pelas maiores médias, exceto nos
465 tempos 0 e 28, nos quais não houve diferença significativa entre os tratamentos.

466 Os ácidos gálico, clorogênico, *o*-cumárico, ferúlico e cafeico foram identificados nas
467 cenouras, bem como vanilina e catequina. Variações significativas foram notadas nos
468 fenólicos totais e individuais, ao longo do armazenamento, embora nenhum efeito do
469 revestimento tenha sido observado, exceção feita ao ácido cafeico (Fig. (7 b - i)). Com efeito,
470 as médias de ácido cafeico de cenouras revestidas foram menores que as de cenouras controle
471 e PEBD (Fig. (7 g)). Tendência de aumento nos teores de fenólicos totais e individuais foi
472 observada durante o armazenamento de cenouras, à exceção da catequina, que apresentou
473 comportamento inverso. Catequina e ácido ferúlico foram os fenólicos majoritários na
474 primeira e segunda metade do armazenamento, respectivamente. O ácido cafeico, seguido do
475 ácido *o*-cumárico, foram os fenólicos minoritários das cenouras, ao longo de todo
476 armazenamento.

477 Nenhum efeito significativo foi observado para a atividade antioxidante das cenouras
478 avaliadas pelos métodos de ABTS e sistema β -caroteno/ácido linoleico, cujas médias gerais
479 foram $17.75 \pm 6.19 \mu\text{mol ET g}^{-1}$ e $48.99 \pm 9.02 \%$ de proteção, respectivamente. Para a
480 atividade antioxidante medida pelo método FRAP, tendência de aumento linear, ao longo do
481 armazenamento, foi observada em cenouras controle e PEBD (Fig. (7 j)). Por outro lado,
482 aumento da atividade antioxidante foi observado nas cenouras ECWSN nos primeiros 14 dias
483 de armazenamento, seguido de queda, enquanto nas cenouras ECOSN observou-se um
484 incremento dos valores na primeira semana de armazenamento, ao 7º dia de armazenamento,
485 seguido de diminuição, na semana seguinte, com tendência à estabilização, a partir de então.
486 Diferenças significativas entre os tratamentos foram notadas a partir do 7º dia de
487 armazenamento, quando as cenouras revestidas apresentaram as maiores médias de atividade
488 antioxidante medida pelo método FRAP. No 14º dia, cenouras ECWSN e controle exibiram as
489 maiores médias, comparadas às demais. No 21º dia, cenouras ECOSN apresentaram a menor
490 média, ao passo que, aos 28 dias, as menores médias foram observadas para as cenouras
491 ECOSN e ECWSN.

492 < Fig. (7) >

493 **3.6 Parâmetros microbiológicos**

494 Relativo aos parâmetros microbiológicos, não houve contagem significativa (25 a 250
495 colônias) (Silva et al., 2017) de bolores e leveduras ao longo do armazenamento, a despeito
496 do tratamento. A contagem de coliformes totais não sofreu efeito significativo do tratamento,
497 tampouco do tempo de armazenamento, não havendo comportamento sistemático para essa

498 variável; quando presentes, estavam abaixo da contagem máxima estabelecida pela legislação
499 para hortaliças frescas, *in natura*, preparadas (descascadas ou selecionadas ou fracionadas)
500 sanitizadas, refrigeradas ou congeladas, para consumo humano direto, de 1×10^2 NMP g⁻¹
501 (BRASIL, 2001). Com base nas análises performadas, a presença de *Salmonella* foi
502 descartada.

503 **3.7 Análise de componentes principais (PCA), clusterização hierárquica e correlação de** 504 **Pearson**

505 A análise de componentes principais (PCA) foi conduzida, a fim de resumir o
506 comportamento dos diferentes tratamentos em relação às variáveis estudadas, ao longo do
507 tempo de armazenamento (Fig. (8 a)). Para facilitar a interpretação do gráfico, a análise de
508 clusterização hierárquica também foi realizada (Fig. (8 b)). Os componentes principais (PC) 1
509 e 2 explicam, juntos, 59.9% da variação total dos dados. Segundo os valores de *loadings*
510 (Tabela 1), apresentaram correlações significativas com o PC1 as variáveis CO₂ no
511 *headspace*, perda de massa (ML), acidez titulável (AT), sólidos solúveis (SS), açúcares
512 redutores (RS), L* lateral, WI central, hue central, PME, PG, fenólicos totais (TP), ácido
513 gálico, catequina, ácido clorogênico e ácido *o*-cumárico. Já as variáveis taxa respiratória
514 (RR), pH, L* central, WI lateral, hue central, C* central, C* lateral, pectina solúvel (SP) e
515 ácido ascórbico apresentaram correlações significativas com o PC2.

516 A análise de cluster permitiu a separação dos tratamentos em dois grandes grupos,
517 sendo o primeiro correspondente ao tempo 0 e o segundo, aos demais tempos. Não obstante, o
518 segundo grande grupo pode, ainda, ser dividido em diversos subgrupos. Por exemplo, o
519 subgrupo que envolve os tratamentos controle e PEBD do tempo 7, outro que envolve
520 controle e PEBD do tempo 14 e aquele que associa ECOSN e ECWSN, no tempo 7. Outro
521 subgrupo é formado pelo tratamento ECOSN, nos tempos 14, 21 e 28 dias. Mais um, agora
522 formado pelo tratamento ECWSN, também nos tempos 14, 21 e 28 dias. Finalmente, um
523 último subgrupo, formado pelos tratamentos controle e PEBD, nos tempos 21 e 28 dias.

524 Associando-se os gráficos de PCA e clusterização hierárquica, observa-se que os
525 tratamentos no tempo 0 apresentaram maior correlação com as variáveis PME e catequina.
526 ECOSN e ECWSN do tempo 7 se destacaram pelos maiores valores de hue, ácido ascórbico e
527 RR, enquanto controle e PEBD do tempo 7, correlacionaram-se com a variável pH. Os
528 tratamentos ECOSN nos tempos 14, 21 e 28 correlacionaram-se, principalmente, com C*
529 (central e lateral), firmeza central e SP. Já os tratamentos ECWSN nos tempos 14, 21 e 28 se

530 correlacionaram com as variáveis CO₂, ML, RR, FRAP, PG e ácidos gálico, ferúlico,
531 clorogênico e *o*-cumárico. Os tratamentos controle e PEBD, no tempo 14, se destacaram pelas
532 variáveis firmeza lateral, WI lateral e L* central. Por fim, os tratamentos controle e PEBD nos
533 tempos 21 e 28 se correlacionaram com as variáveis ácido cafeico, vanilina, carotenoides, TA,
534 TP, L* lateral e WI central.

535 O gráfico de correlação de Pearson também foi construído (Fig. (9)), indicando as
536 correlações exibidas entre as variáveis avaliadas e foi utilizado para reforçar a discussão dos
537 dados, que será exposta, adiante.

538 < Fig. (8) >

539 < Tabela 1 >

540 < Fig. (9) >

541 **4 Discussão**

542 **4.1 Taxa respiratória e teor de CO₂ no *headspace***

543 Biocompósitos à base de amido exercem comprovadamente boa barreira a gases,
544 sendo eficazes na promoção de modificação atmosférica (Sharma et al., 2019; Thakur et al.,
545 2019). Sendo assim, esperava-se que as cenouras revestidas com ECOSN e ECWSN
546 exibissem menor taxa respiratória em relação aos demais tratamentos, o que não aconteceu.
547 Considerando que o produto minimamente processado é submetido a diversas operações,
548 como descascamento, corte e elevada manipulação, a aplicação do revestimento pode
549 constituir um stress adicional, o que contribui para a elevação da taxa respiratória. O efeito
550 combinado do processamento mínimo + revestimento sobre o aumento da taxa respiratória em
551 cenouras minimamente processadas foi reportado e sustentado por outros autores (Lai et al.,
552 2013; Simões et al., 2009). Entretanto, considerando que o comportamento exibido para a taxa
553 respiratória não seguiu uma tendência crescente e que os valores oscilaram ao longo do tempo
554 de armazenamento, as maiores médias exibidas pelas cenouras revestidas com ECOSN e
555 ECWSN podem ser indicativos de uma diminuição na oscilação e, portanto, maior
556 estabilidade das médias, nesses tratamentos. Em adição, a taxa respiratória pouco se
557 correlacionou com as demais variáveis (Fig. (9)), sendo as correlações, quando significativas,
558 muito fracas.

559 Houve acúmulo de CO₂ no *headspace* das embalagens durante o armazenamento,
560 embora em baixa intensidade, a despeito do revestimento/embalagem (Fig. (3 b)). O nível

561 máximo de acúmulo observado foi de 0,45% de CO₂. Níveis tão baixos de CO₂ não são,
562 normalmente, suficientes para provocar alterações significativas na fisiologia de vegetais que
563 afetem sua qualidade e vida útil (Zagory and Kader, 1988). Logo, sob as condições de
564 armazenamento adotadas, os revestimentos/embalagens utilizados não se mostraram boas
565 barreiras ao CO₂ atmosférico.

566 **4.2 Perda de massa, AT, pH, SS e açúcares redutores**

567 De acordo com as curvas de regressão, nota-se a maior efetividade do PEBD na
568 contenção da perda de massa, ao longo do desenvolvimento. A partir do 14° dia de
569 armazenamento já é possível observar tendência de maior efetividade dos revestimentos, em
570 comparação ao controle, embora estatisticamente comprovada pelo teste de médias, apenas no
571 28° dia. Os resultados obtidos corroboram os de Lago et al. (2021, 2020), que relatam que os
572 mesmos bionanocompósitos apresentam boas propriedades de barreira, embora exibam
573 valores de permeabilidade ao vapor d'água, absorção de água (valor Cobb) e molhabilidade
574 superiores aos filmes de PEBD. Ainda assim, destaca-se que as médias gerais apresentadas
575 pelas cenouras revestidas foram inferiores às do controle. Outro ponto a ser considerado é que
576 a solubilização de parte da solução filmogênica, observada ao longo do armazenamento, em
577 algumas fatias de cenoura (Fig. (1 c)) pode ter influenciado para maiores valores de perda de
578 massa nas amostras revestidas. De fato, os revestimentos aplicados, embora tenham exibido
579 boas propriedades de barreira a gases, têm caráter hidrofílico (Lago et al., 2021, 2020), o que
580 pode ter otimizado a perda por evaporação. Ainda que as fatias submetidas à imersão em
581 solução filmogênica tenham sido drenadas e secas antes do armazenamento, a superfície lisa
582 das fatias e alta viscosidade das soluções podem ter contribuído para a ocorrência de excessos
583 localizados. Com o decorrer do armazenamento sob alta umidade relativa, esses excessos
584 podem ter se dissolvido e sofrido evaporação, superestimando, portanto, os reais valores de
585 perda de massa. (Fai et al., 2016), por exemplo, testaram o revestimento de cenouras
586 minimamente processadas com soluções biodegradáveis sob diferentes métodos de aplicação
587 e constataram que as cenouras revestidas pelo método de *spraying* exibiram menor perda de
588 massa que aquelas cujo revestimento foi aplicado por imersão. Sendo assim, maiores estudos
589 envolvendo diferentes métodos de aplicação dos revestimentos elaborados devem ser
590 conduzidos, a fim de otimizar o processo. É importante ressaltar que, mesmo com a perda
591 parcial ao longo do armazenamento, as soluções filmogênicas foram eficazes em promover a
592 hidratação das fatias de cenoura e amenizar a perda de água. De fato, Fai et al. (2016)
593 enfatizaram que, além da barreira ao vapor d'água imposta, revestimentos comestíveis de

594 caráter hidrofílico, como os do presente estudo, reduzem a perda de água de cenouras
595 minimamente processadas promovendo a hidratação da superfície.

596 A acidez de cenoura é, normalmente, associada à presença de ácidos orgânicos, como
597 o málico, oxálico, fumárico, chiquímico e tartárico (Guimarães et al., 2016a). Não obstante, o
598 incremento da acidez e consequente redução do pH, ao longo do tempo de armazenamento
599 pode ser relacionado, pelo menos parcialmente, ao aumento do teor de compostos fenólicos.
600 Babic et al. (1993), por exemplo, comentaram que o aumento de ácidos em cenouras
601 minimamente processadas pode estar relacionado com o processo de lignificação e
602 suberização e também com o mecanismo de defesa contra microrganismos. De fato,
603 compostos fenólicos relacionados ao processo de defesa, como ácido gálico e o ácido
604 clorogênico, bem como aqueles associados ao processo de lignificação, como o ácido ferúlico,
605 ácido *o*-cumárico e ácido cafeico, possuem caráter ácido e podem contribuir para o aumento
606 da acidez titulável (Campos et al., 2011; Guimarães et al., 2016a). Sendo assim, o incremento
607 desses compostos, observado ao longo do armazenamento, pode ter contribuído para o
608 aumento da acidez das cenouras. Com efeito, correlações positivas foram notadas entre o teor
609 de AT e o total de fenólicos, bem como os fenólicos ácidos (Fig. (9)), o que reforça a
610 hipótese. Em contraponto, o decréscimo nos valores de pH é atribuído a essa acidificação, o
611 que é reforçado pela correlação negativa apresentada entre pH e AT (Fig. (9)). Ressalta-se que
612 a AT e o pH não foram influenciados pelos revestimentos/embalagens.

613 O aumento do teor de SS ao longo do armazenamento pode ser atribuído a diferentes
614 eventos. Num primeiro momento, pode estar relacionado à perda de massa, que promove a
615 concentração de açúcares no produto. Por outro lado, esse aumento pode estar relacionado à
616 presença de compostos de parede celular, como pectina e açúcares resultantes da quebra das
617 cadeias de ácido galacturônico e de celulose (Payasi et al., 2009; Wang et al., 2020). Essa
618 hipótese é sustentada pelo comportamento observado para a análise de açúcares, que também
619 aumentaram ao longo do armazenamento. Embora tenham apresentado correlações positivas
620 com a atividade de PG, os parâmetros sólidos solúveis e açúcares redutores não exibiram
621 correlação significativa com o teor de pectina solúvel (Fig. (9)), o que enfraquece a hipótese
622 do aumento devido à solubilização pectínica. Por outro lado, fortes correlações positivas foram
623 notadas entre SS, açúcares e perda de massa, o que permite inferir que o incremento nos
624 teores de sólidos solúveis e açúcares, nesse estudo, é consequência, pelo menos em parte, da
625 perda de massa. Nesse caso, embora não tenham exercido efeito significativo direto sobre o
626 teor de SS, os revestimentos foram efetivos na redução da perda de massa. O aumento

627 observado nos açúcares pode ter sido resultado da hidrólise de resquícios de amino na
628 cenoura, embora essa variável não tenha sido analisada neste estudo. O aumento de SS pode,
629 ainda, ser associado ao aumento da AT, visto que os ácidos que ditam a acidez são,
630 normalmente, solúveis em água. A forte correlação positiva notada entre SS e AT reforça a
631 hipótese (Fig. (9)).

632 **4.3 Coloração e teor de carotenoides**

633 O aumento dos valores de L* ao longo do armazenamento acompanha o
634 comportamento de IE e indica o maior esbranquecimento da superfície. A correlação positiva
635 entre essas duas variáveis confirma a hipótese (Fig. (9)). O esbranquecimento da superfície é
636 um fenômeno recorrente em cenouras minimamente processadas, podendo ser consequência
637 de respostas físicas ou fisiológicas aos ferimentos do tecido. A resposta física está relacionada
638 à desidratação da superfície, sendo um processo reversível; já a resposta fisiológica envolve a
639 lignificação dos tecidos, que resulta no esbranquecimento irreversível da superfície; o
640 processo pode ser, ainda, resultado da combinação dos dois eventos (Chen et al., 2018; Fai et
641 al., 2016; Li et al., 2021; Song et al., 2017; Xylia et al., 2019). No presente estudo,
642 correlações significativas e positivas são notadas entre os valores de WI (central e lateral) e os
643 parâmetros perda de massa e fenólicos totais, bem como fenólicos envolvidos no processo de
644 lignificação, sugerindo que o esbranquecimento da superfície está relacionado a ambos os
645 eventos. Entretanto, nota-se que as correlações exibidas para a perda de água (0.61 e 0.35,
646 para WI central e WI lateral, respectivamente), são mais fortes que aquelas exibidas para o
647 teor de fenólicos totais (0.50 e 0.25, para WI central e WI lateral, respectivamente), o que
648 permite inferir que, nesse caso, o esbranquecimento da superfície é atribuído majoritariamente
649 à desidratação das cenouras.

650 Levando em consideração a hipótese de esbranquecimento da superfície pela
651 desidratação, os menores valores de WI exibidos pelas cenouras revestidas, sobretudo aquelas
652 revestidas com ECOSN, podem ser atribuídos às propriedades de barreira ao vapor d'água dos
653 revestimentos que, assim como a embalagem de PEBD, minimizam a perda de água para o
654 ambiente externo, além da capacidade dos revestimentos em promover a hidratação do tecido
655 das cenouras, conforme já discutido. Nesse caso, a hipótese de que os valores de perda de
656 massa das amostras revestidas foram superestimados pela perda de parte da solução
657 filmogênica ao longo do armazenamento é reforçada, uma vez que esses tratamentos exibiram
658 valores de WI semelhantes ou mesmo inferiores aos das cenouras PEBD, que exibiram menor
659 perda de massa. Por outro lado, considerando o esbranquecimento causado pelo processo de

660 lignificação, as cenouras revestidas exibiram menor tendência à lignificação (evidenciada
661 pelos resultados de fenólicos individuais), o que pode ter contribuído para os menores valores
662 de WI. Os possíveis mecanismos pelos quais os revestimentos retardam a lignificação os
663 tecidos serão discutidos adiante.

664 Os valores de C^* podem ser relacionados aos valores de WI, numa proporção inversa.
665 Essa relação já foi constatada por outros autores (Fai et al., 2016; Shigematsu et al., 2018;
666 Xylia et al., 2019) e é atribuída à perda da intensidade de coloração alaranjada, com o avanço
667 do processo de esbranquecimento. Embora essa relação inversa tenha sido observada para os
668 valores relativos à região central, a correlação só foi significativa para os valores relativos à
669 região lateral (Fig. (9)). Nesse caso, as maiores médias exibidas pelas cenouras revestidas
670 com ECOSN são atribuídas ao menor índice de esbranquecimento apresentado por esses
671 tratamentos. Ainda que tenham apresentado médias inferiores à ECOSN, as cenouras
672 revestidas com ECWSN obtiveram desempenho semelhante à PEBD e superior ao do
673 controle, nos últimos tempos de armazenamento, indicando sua efetividade na atenuação do
674 processo de esbranquecimento da superfície e, conseqüentemente, perda de intensidade de
675 cor, cujos possíveis mecanismos já foram abordados.

676 Os valores de h° e carotenoides exibiram correlação negativa, como pode ser
677 observado na Fig. (9). A diminuição dos valores de hue observada ao longo do
678 armazenamento é atribuída a maior intensidade de coloração vermelho-alaranjada,
679 relacionada com o maior teor de carotenoides. Isso explica o fato de as cenouras revestidas
680 com ECOSN e ECWSN, que exibiram as maiores médias gerais para h° , terem exibido o
681 menor teor de carotenoides ao final do armazenamento. Esse comportamento pode estar
682 relacionado à perda da integridade celular, com maior liberação de carotenoides, presentes
683 nos cromoplastos das células (Martínez et al., 2018; Zielinska and Markowski, 2012).
684 Correlação positiva foi observada entre o teor de carotenoides e o valor de firmeza lateral e o
685 teor de fenólicos totais e fenólicos relacionados ao processo de lignificação (Fig. (9)),
686 variáveis envolvidas na modificação da firmeza das cenouras ao longo do armazenamento, o
687 que corrobora a hipótese de aumento dos carotenoides devido à perda de integridade das
688 membranas.

689 A diminuição das médias no último tempo de armazenamento, observado nas cenouras
690 revestidas, pode ser atribuída à degradação dos carotenoides, conseqüência dos processos de
691 oxidação oriundos do metabolismo das cenouras e estimulados pelo corte. Entretanto, deve-se
692 notar que a diminuição pronunciada das médias, nesses tratamentos, se deu somente no último

693 tempo de armazenamento e que, para o revestimento com ECOSN, os valores estavam
694 semelhantes ao do tempo inicial. Nas cenouras controle e seladas com PEBD, também pode
695 ter ocorrido degradação, porém os danos à estrutura das membranas podem ter otimizado a
696 liberação de carotenoides e mascarado a degradação, tendo em vista que o comportamento
697 permaneceu crescente até o final do armazenamento.

698 **4.4 Alterações texturais**

699 Segundo os comportamentos apresentados nas curvas de regressão (Fig. (5)) e pelo
700 gráfico de correlação (Fig. (9)), observa-se que as modificações da firmeza ao longo do
701 armazenamento foram mediadas por diferentes processos, nas diferentes regiões da superfície
702 analisadas. Entretanto, salienta-se que as regiões lateral e central das fatias de cenoura, alvos
703 das determinações de firmeza, não foram separadas quando das determinações químicas, o
704 que dificulta associações claras entre os compostos químicos determinados e a firmeza em
705 cada região da cenoura.

706 A firmeza da região lateral exibiu correlação negativa com a pectina solúvel e positiva
707 com o total de fenólicos. Sendo assim, a diminuição das médias exibidas pelas cenouras
708 revestidas, nos últimos tempos de armazenamento, pode ser atribuída à maior solubilização
709 péctica, consequência das enzimas de amaciamento. Já o incremento dos valores é atribuído
710 ao processo de lignificação, que torna os tecidos mais fibrosos à medida que o
711 armazenamento se avança, impondo resistência à penetração (Ben-Fadhel et al., 2021; Qadri
712 et al., 2015). Considerando esse comportamento, é possível sugerir menor incidência de
713 lignificação nos tratamentos revestidos, uma vez que, embora tenham apresentado aumento da
714 firmeza lateral nos tempos iniciais, apresentaram tendência à queda nos últimos tempos de
715 armazenamento, ao passo que os tratamentos controle e PEBD prosseguiram com o
716 comportamento crescente.

717 Já a firmeza da região central foi positivamente correlacionada com o teor de pectina
718 solúvel e não apresentou correlação significativa com o teor de fenólicos totais (Fig. (9)),
719 sugerindo que, nessa região, o processo de lignificação pouco influenciou os valores de
720 firmeza. A correlação positiva entre firmeza e pectina solúvel não era esperada, visto que,
721 normalmente, a solubilização péctica contribui para amaciamento dos tecidos (Cybulska et al.,
722 2015; Guimarães et al., 2016b). Uma possível explicação seria a de que a solubilização de
723 polímeros da parede celular leva à sua desestruturação e consequente perda de turgor celular,
724 tornando o tecido vegetal elástico. Assim, a maior força requerida na medição da firmeza na

725 região central das cenouras com maior solubilização péctica estaria associada à elasticidade
726 do tecido, antes que à sua real firmeza. Logo, a menor firmeza observada na região central das
727 cenouras ECOSN, em comparação às submetidas aos demais tratamentos, no último dia de
728 armazenamento, sugere tecido menos elástico e portanto, maior eficiência desse tratamento. A
729 ausência de correlação entre a firmeza da região central e lateral ratifica os comportamentos
730 distintos.

731 A PME atua promovendo a desmetilação das cadeias de ácido poligalacturônico,
732 permitindo, então, que a PG atue, hidrolisando o ácido poligalacturônico desmetilado em
733 resíduos de ácido galacturônico (Payasi et al., 2009; Sénéchal et al., 2014). O comportamento
734 inverso da atividade de ambas enzimas, ao longo do armazenamento, sugere a importância da
735 PME, em maior atividade no início do armazenamento, na desmetilação parcial das cadeias
736 pécticas, preparando-as para a ação da PG, que tem sua atividade aumentada com o avanço do
737 armazenamento. Não obstante, a atividade das enzimas da parede celular estudadas não se
738 correlacionou com a firmeza das regiões central e lateral das cenouras, o que sugere a ação de
739 outras enzimas da parede celular, ou mesmo o processo de lignificação, como determinantes
740 das alterações texturais em cenouras. Com efeito, os revestimentos/embalagem não afetaram
741 de forma significativa a atividade das enzimas de parede. Os efeitos positivos dos
742 revestimento sobre a firmeza, notados no 28º dia de armazenamento, sugerem sua ação sobre
743 outros processos, como os supra citados. Assim, os resultados obtidos levam a crer que a
744 firmeza das cenouras minimamente processadas, neste estudo, foi majoritariamente
745 influenciada pelo teor de fenólicos, certamente devido ao processo de lignificação, em que os
746 revestimentos aplicados exerceram efeito benéfico.

747 Segundo Santosa et al. (2016) a textura de cenouras é afetada pela integridade dos
748 componentes celulares (parede celular e lamela média), bem como pela pressão de turgor
749 celular, que, por sua vez, estão intimamente relacionados ao teor de água nos vacúolos
750 (Chassagne-Berces et al., 2009). Sendo assim, a perda da integridade da estrutura celular,
751 observada nas micrografias de MEV (Fig. (6)), pode ser atribuída, pelo menos em parte, à
752 ação das enzimas da parede celular determinadas, embora outras enzimas não sejam
753 descartadas, bem como à perda de água resultante da desintegração, que reduz o turgor das
754 células, o que por sua vez torna o tecido celular mais susceptível à deformação (Wang et al.,
755 2021). Ainda que não tenha exercido influência significativa diretamente nos valores de
756 firmeza, a perda de massa mostrou correlações positivas com o teor de pectina solúvel e total
757 de fenólicos, bem como os fenólicos associados à lignificação, parâmetros que mediam as

758 modificações da firmeza das cenouras, ao longo do armazenamento. Nesse caso, o efeito de
759 barreira à permeabilidade ao vapor d'água exercido pelos revestimentos, além do efeito de
760 hidratação, acabou por manter a estrutura celular das cenouras mais íntegra ao longo do
761 armazenamento, efeito corroborado pelos resultados de firmeza das cenouras no 28º dia de
762 armazenamento, já discutidos anteriormente.

763 **4.5 Ácido ascórbico, fenólicos totais, perfil de fenólicos e atividade antioxidante**

764 Em situações de estresse, como o processo de descascamento, corte e manipulação, o
765 ácido ascórbico age como agente redutor na decomposição de peróxido de hidrogênio (H₂O₂)
766 e outras espécies reativas de oxigênio (ROS), catalisada pela enzima ascorbato peroxidase
767 (APX) (Gill and Tuteja, 2010; Li et al., 2020). O ácido ascórbico, então oxidado a
768 dehidroascórbico, pode ser novamente reduzido pela ação de outros compostos antioxidantes,
769 como a glutatona e aminoácidos sulfurados (Gomez and Lajolo, 2008; Wang et al., 2015).
770 Esse processo de oxirredução perdura até certo ponto, em que as reações de oxidação se
771 sobressaem, culminando na degradação irreversível do ácido ascórbico. Não por acaso, o teor
772 de ácido ascórbico é um dos principais indicadores de qualidade pós-colheita em vegetais
773 minimamente processados (Cocetta et al., 2014). Os maiores teores de ácido ascórbico
774 exibidos pelas cenouras revestidas indicam, portanto, menor incidência de processos
775 oxidativos nesses tratamentos, que apresentaram redução irreversível do ácido ascórbico mais
776 tardiamente, no último tempo de armazenamento, em comparação aos demais tratamentos, em
777 que houve tendência à queda ao longo do armazenamento. Isso indica o efeito dos
778 revestimentos em minimizar reações de oxidação, inevitáveis em produtos minimamente
779 processados.

780 O incremento de fenólicos observado ao longo do armazenamento é frequentemente
781 reportado para cenouras minimamente processadas, sendo associado ao metabolismo
782 fenilpropanóide, como resultado do aumento da atividade de fenilalanina amônia liase (PAL),
783 induzido pelo stress (Alegria et al., 2016; Hellström et al., 2020). Além disso, o aumento do
784 teor de fenólicos pode ter ligação com a descompartimentação celular, que permite a liberação
785 de compostos fenólicos solúveis presentes nos vacúolos e compostos fenólicos insolúveis
786 ligados à pectina (Feumba Dibanda et al., 2020; Rodríguez-Bencomo et al., 2015; Wang et al.,
787 2021). Por exemplo, os ácidos hidroxicinâmicos (C6-C3), que contêm um sistema conjugado,
788 tais como os ácidos ferúlicos, estão frequentemente ligados à hemicelulose com ligações
789 ésteres para formar parte da parede celular (Wang et al., 2021). De fato, houve correlação

790 positiva entre a atividade de PG e o teor de fenólicos totais e fenólicos ácidos, incluindo ácido
791 ferúlico (Fig. (9)).

792 Quando se analisa o resultado de fenólicos individuais, observa-se que aqueles que
793 sofreram aumento ao longo do armazenamento estão envolvidos com mecanismos de defesa e
794 lignificação dos tecidos. A síntese de ácido gálico, por exemplo, pode ter sido estimulada
795 como resposta do sistema antioxidante celular, visto que o ácido gálico é um precursor de
796 metabólitos secundários que possuem atividade contra danos oxidativos (Marchiosi et al.,
797 2020; Muir et al., 2011). De maneira semelhante, o teor de ácido clorogênico foi reportado
798 aumentando ao longo do armazenamento de cenouras minimamente processadas como
799 resposta ao stress oriundo do corte, que estimula a síntese de ácidos hidroxicinâmicos, como o
800 ácido clorogênico e seus derivados (Alarcón-Flores et al., 2014; Alegria et al., 2016; Jacobo-
801 Velázquez et al., 2011). Já os ácidos cafeico, ferúlico e o-cumárico são uns dos principais
802 intermediários na via da síntese de lignina, sendo o seu incremento ao longo do
803 armazenamento associado à lignificação dos tecidos em cenouras minimamente processadas
804 (Alarcón-Flores et al., 2014; Alegria et al., 2016; Boerjan et al., 2003; Grzesik et al., 2018;
805 Hellström et al., 2020; Ranjitha et al., 2017; Surjadinata and Cisneros-Zevallos, 2012). A
806 vanilina, por sua vez, é sintetizada por meio da oxidação do ácido ferúlico, sendo também
807 associada ao processo de lignificação de tecidos em produtos vegetais (Kumar and Pruthi,
808 2014; Lozovaya et al., 1996). De fato, correlação positiva é notada entre os teores de vanilina
809 e ácido ferúlico (Fig. (9)).

810 A catequina, único fenólico identificado que apresentou queda ao longo do
811 armazenamento, caracteriza-se pela alta atividade antioxidante. Foi comprovado, por
812 exemplo, que a catequina exibe maior poder sequestrante de radical ABTS e maior poder
813 redutor de Fe^{3+} no ensaio FRAP em comparação com outras substâncias antioxidantes, como
814 o ácido ascórbico (Grzesik et al., 2018). Sendo assim, sugere-se que a catequina tenha sido a
815 via preferencial de consumo como fenólico antioxidante nas cenouras, devido a seu grande
816 poder redutor e sequestrante e à quantidade inicial presente. Ainda que os demais fenólicos
817 identificados também exibam atividade antioxidante, sua síntese estimulada pelos processos
818 catabólicos e pela lignificação dos tecidos, impediram que eles apresentassem queda ao longo
819 do armazenamento, ao contrário da catequina. Sendo assim, a catequina, que era o composto
820 fenólico predominante no início do armazenamento, sofreu degradação constante ao longo do
821 tempo, sendo que, ao final do armazenamento, o fenólico predominante era o ácido ferúlico,
822 relacionado ao processo de lignificação.

823 Mesmo que os teores desses ácidos fenólicos tenham aumentado ao longo do tempo, a
824 despeito do tratamento, como consequência da injúria mecânica promovida pelo corte, as
825 cenouras ECOSN e ECWSN exibiram os menores valores para ácido cafeico (Fig. (7 g)), o
826 que indica menor incidência de lignificação dos tecidos nos tratamentos revestidos. Essa
827 hipótese é reforçada quando se considera a alta correlação apresentada entre o ácido cafeico e
828 os valores de WI - ácido cafeico, juntamente com o ácido clorogênico e ácido gálico, foram
829 os fenólicos que exibiram correlações mais fortes com WI central (0.63, 0.69 e 0.84,
830 respectivamente), enquanto o ácido cafeico foi o fenólico que exibiu a maior correlação para
831 WI lateral (0.53) (Fig. (9)). Segundo Wang et al. (2015), o aumento da área de contato entre a
832 superfície das cenouras e o oxigênio contribui para a rápida síntese de fenólicos, sobretudo
833 aqueles ligados ao processo de lignificação dos tecidos. Sendo assim, embora também tenham
834 sofrido ação mecânica dos cortes, as cenouras revestidas podem ter tido a síntese de fenólicos
835 atenuada pela barreira ao oxigênio exercida pelos revestimentos. De fato, a diminuição do
836 acúmulo de fenólicos ao longo do armazenamento de cenouras minimamente processadas por
837 atmosferas com teor de O₂ reduzido já foi comprovada pela literatura (Babic et al., 1993;
838 Simões et al., 2009). De maneira semelhante, os revestimentos podem ter exercido efeito
839 retardante sobre a atividade de enzimas envolvidas no processo de lignificação, tais como a
840 fenilalanina amônia liase (PAL), peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO), as duas últimas
841 dependentes de oxigênio (Chen et al., 2018). Entretanto, estudos avaliando o efeito dos
842 revestimentos elaborados sobre as atividades dessas enzimas devem ser conduzidos para
843 confirmar tal hipótese. Esse resultado corrobora os comportamentos observados e sugeridos
844 para firmeza e esbranquecimento da superfície, conforme já discutido, reforçando a
845 efetividade dos revestimentos aplicados sobre o retardo do processo de lignificação e
846 consequente esbranquecimento da superfície de cenouras minimamente processadas.

847 Ainda que o ácido ascórbico e os carotenoides contribuam em grande parte para a
848 atividade antioxidante em cenouras, a atividade antioxidante medida pelo método de FRAP,
849 neste estudo, parece estar mais relacionada aos compostos fenólicos. O gráfico de correlação
850 (Fig. (9)) confirma a hipótese, indicando ausência de correlação entre ácido ascórbico e FRAP
851 e uma fraca correlação positiva com o teor de carotenoides. De fato, o ácido ascórbico não
852 sofreu grandes alterações, do ponto de vista quantitativo, enquanto os carotenoides totais
853 oscilaram, ao longo do armazenamento (Fig. (4 h)). Por outro lado, correlações positivas mais
854 fortes são notadas entre FRAP e os teores de fenólicos totais e ácidos fenólicos. Tendo em
855 vista que esses fenólicos apresentaram incremento ao longo do armazenamento, sua atividade

856 pode ter se sobressaído em relação aos demais compostos com atividade antioxidante,
857 explicando, pois, sua maior contribuição para a atividade antioxidante total. A atividade
858 antioxidante notada nos tempos mais avançados de armazenamento pode ser atribuída,
859 majoritariamente, aos ácidos fenólicos, envolvidos no processo de reparo a danos oxidativos e
860 lignificação. Sendo assim, as maiores médias notadas para as cenouras revestidas nos tempos
861 iniciais podem ser devidas à maior preservação de carotenoides e, até mesmo ácido ascórbico,
862 a despeito da correlação negativa, e retardo nos eventos oxidativos, enquanto que, ao final do
863 armazenamento, as cenouras controle e PEBD passaram a exibir as maiores médias, como
864 resultado do maior processo de lignificação, nesses tratamentos. Essa hipótese é reforçada
865 pelo fato de que o comportamento apresentado pelas cenouras controle e PEBD para a análise
866 de FRAP é crescente, acompanhando a tendência dos fenólicos totais e ácidos fenólicos,
867 enquanto que as cenouras revestidas acompanharam a tendência do ácido ascórbico, com
868 aumento inicial dos valores, seguido de queda ao final do armazenamento (Fig. (7 a)).

869 **4.6 Análise de componentes principais (PCA), clusterização hierárquica e correlação de** 870 **Pearson**

871 A separação de *clusters* pelo fator tempo indica que houve efeito do armazenamento
872 sobre a qualidade das cenouras minimamente processadas, a despeito do tratamento. A
873 correlação isolada da catequina com os tratamentos no tempo 0 indica seu rápido consumo
874 como agente antioxidante ao longo do armazenamento, conforme sugerido. As correlações
875 exibidas pelo gráfico de PCA indicam que as cenouras ECOSN foram as que apresentaram
876 menor perda de qualidade, exibindo fraca correlação com os parâmetros associados à
877 lignificação e com o esbranquecimento e mantendo a coloração alaranjada intensa
878 característica, evidenciada pelos altos valores de C^* , até o final do armazenamento. Isso
879 indica que o desempenho dos revestimentos elaborados com nanofibrilas de palha de aveia foi
880 superior aos dos revestimentos com nanofibrilas palha de trigo, nas concentrações utilizadas,
881 para a manutenção da qualidade das cenouras minimamente processadas. Ainda que as
882 cenouras ECWSN tenham se correlacionado com parâmetros associados à perda da qualidade,
883 como síntese de ácidos fenólicos e perda de massa, essas correlações se deram com o avanço
884 do armazenamento; além disso, ficou constatado, pelos resultados obtidos, que a perda de
885 massa foi superestimada nesses tratamentos, devido à dissolução de parte da solução
886 filmogênica. Embora tenha exibido desempenho inferior à ECOSN, o revestimento ECWSN
887 foi eficaz em reduzir o esbranquecimento da superfície, evidenciado pelos baixos valores de
888 L^* e WI. Altos valores dessas variáveis tiveram maior correlação com os tratamentos controle

889 e PEBD, no gráfico de PCA. Embora tenham exibido comportamento semelhante, a separação
890 dos tratamentos controle e PEBD, nos últimos tempos de armazenamento, em subgrupos
891 distintos, indica maior ocorrência de esbranquecimento da superfície e lignificação nos
892 tratamentos controle, sinalizando a importância do emprego de embalagens com propriedades
893 de barreira na manutenção da qualidade de cenouras minimamente processadas.

894 **5. Conclusões**

895 Revestimentos comestíveis à base de amido reforçados com nanofibrilas celulósicas
896 obtidas de palhas de aveia (ECOSN) e trigo (ECWSN), com maior destaque para ECOSN,
897 foram eficazes em reduzir o esbranquecimento da superfície causado pela perda de água e
898 pelo processo de lignificação, principal problema observado em cenouras minimamente
899 processadas.

900 Revestimentos comestíveis à base de amido de mandioca reforçados com nanofibrilas
901 celulósicas obtidas de palhas de aveia e trigo figuram-se como alternativas biodegradáveis
902 para embalagens de cenouras minimamente processadas. A aplicação dos revestimentos
903 elaborados em outros produtos deve ser investigada, a fim de expandir as possibilidades de
904 aplicabilidade.

905 **Agradecimentos**

906 Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico e
907 Científico (CNPq: 304413/2016-0, 302699/2019-8), à Fundação de Apoio à Pesquisa de
908 Minas Gerais (FAPEMIG: PPM-00458-15; PPM-00355-17 e à Coordenação de
909 Melhoramento do Pessoal do Ensino Superior (CAPES: 88881.068456/2014-01) pelo apoio
910 financeiro.

911 **Referências**

- 912 Alarcón-Flores, M.I., Romero-González, R., Vidal, J.L.M., González, F.J.E., Frenich, A.G.,
913 2014. Monitoring of phytochemicals in fresh and fresh-cut vegetables: A comparison.
914 Food Chem. 142, 392–399. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.065>
- 915 Alegria, C., Gonçalves, E.M., Moldão-Martins, M., Cisneros-Zevallos, L., Abreu, M., 2016.
916 Peel removal improves quality without antioxidant loss, through wound-induced
917 phenolic biosynthesis in shredded carrot. Postharvest Biol. Technol. 120, 232–239.
918 <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.07.004>

- 919 AOAC INTERNATIONAL, 2016. Official methods of Analysis, 20th ed. AOAC
920 International, Rockville, MD.
- 921 Arscott, S.A., Tanumihardjo, S.A., 2010. Carrots of many colors provide basic nutrition and
922 bioavailable phytochemicals acting as a functional food. *Compr. Rev. Food Sci. Food*
923 *Saf.* 9, 223–239. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00103.x>
- 924 Babic, I., Amiot, M.J., Nguyen-The, C., Aubert, S., 1993. Changes in Phenolic Content in
925 Fresh Ready-to-use Shredded Carrots during Storage. *J. Food Sci.* 58, 351–356.
926 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb04273.x>
- 927 Ben-Fadhel, Y., Cingolani, M.C., Li, L., Chazot, G., Salmieri, S., Horak, C., Lacroix, M.,
928 2021. Effect of γ -irradiation and the use of combined treatments with edible bioactive
929 coating on carrot preservation. *Food Packag. Shelf Life* 28, 100635.
930 <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100635>
- 931 Blumenkrantz, N., Asboe-Hansen, G., 1973. New Method for Quantitative Determination of
932 Uronic Acids. *Anal. Biochem.* 54, 484–489. [https://doi.org/10.1016/0003-](https://doi.org/10.1016/0003-2697(73)90377-1)
933 [2697\(73\)90377-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(73)90377-1)
- 934 Boerjan, W., Ralph, J., Baucher, M., 2003. Lignin Biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Biol.* 54,
935 519–546. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.031902.134938>
- 936 BRASIL, 2001. BRASIL.Rdc Nº 12, De 2001. Aprova o Regulamento Técnico Sobre Os
937 Padrões Microbiológicos Para Alimentos. Órgão emissor: ANVISA - Agência Nacional
938 de Vigilância Sanitária. *Diário Of. da União* 2001, 5.
- 939 Campos, R.P., Kwiatkowski, A., Clemente, E., 2011. Post-harvest conservation of organic
940 strawberries coated with cassava starch and chitosan. *Rev. Ceres* 58, 554–560.
941 <https://doi.org/10.1590/s0034-737x2011000500004>
- 942 Chassagne-Berces, S., Poirier, C., Devaux, M.F., Fonseca, F., Lahaye, M., Pigorini, G.,
943 Girault, C., Marin, M., Guillon, F., 2009. Changes in texture, cellular structure and cell
944 wall composition in apple tissue as a result of freezing. *Food Res. Int.* 42, 788–797.
945 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.03.001>
- 946 Chen, C., Hu, W., Zhang, R., Jiang, A., Liu, C., 2018. Effects of hydrogen sulfide on the
947 surface whitening and physiological responses of fresh-cut carrots. *J. Sci. Food Agric.*
948 98, 4726–4732. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9007>

- 949 Cisneros-Zevallos, L., Saltveit, M.E., Krochta, J.M., 1997. Mechanism of Surface White
950 Discoloration of Peeled (Minimally Processed) Carrots During Storage. *J. Food Sci.* 60,
951 320–323. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb05664.x>
- 952 Cocetta, G., Baldassarre, V., Spinardi, A., Ferrante, A., 2014. Effect of cutting on ascorbic
953 acid oxidation and recycling in fresh-cut baby spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves.
954 *Postharvest Biol. Technol.* 88, 8–16. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.09.001>
- 955 Cunha, M.C. Da, Silva, J.S., Elias, H.H. De S., Carvalho, E.E.N., Vilas Boas, E.V. De B.,
956 2021. Effects of processing and packaging on bioactive compounds of curriola jelly
957 [*Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk.] during storage. *Food Sci. Technol.* 41, 96–104.
958 <https://doi.org/10.1590/fst.38519>
- 959 Cybulska, J., Zdunek, A., Kozió, A., 2015. The self-assembled network and physiological
960 degradation of pectins in carrot cell walls *Food Hydrocolloids* The self-assembled
961 network and physiological degradation of pectins in carrot cell walls.
962 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.04.032>
- 963 Dias, J.C. da S., 2014. Nutritional and Health Benefits of Carrots and Their Seed Extracts.
964 *Food Nutr. Sci.* 05, 2147–2156. <https://doi.org/10.4236/fns.2014.522227>
- 965 Fai, A.E.C., Alves de Souza, M.R., de Barros, S.T., Bruno, N.V., Ferreira, M.S.L., Gonçalves,
966 T.C.B.D.A., Branco de Andrade, É.C., 2016. Development and evaluation of
967 biodegradable films and coatings obtained from fruit and vegetable residues applied to
968 fresh-cut carrot (*Daucus carota* L.). *Postharvest Biol. Technol.* 112, 194–204.
969 <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.09.021>
- 970 Feumba Dibanda, R., Panyoo Akdowa, E., Rani P., A., Metsatedem Tongwa, Q., Mbofung F.,
971 C.M., 2020. Effect of microwave blanching on antioxidant activity, phenolic compounds
972 and browning behaviour of some fruit peelings. *Food Chem.* 302, 125308.
973 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125308>
- 974 Galgano, F., Condelli, N., Favati, F., Di Bianco, V., Perretti, G., Caruso, M.C., 2015.
975 Biodegradable packaging and EDIBLE COATING for fresh-cut fruits and vegetables.
976 *Ital. J. Food Sci.* 27, 1–20. <https://doi.org/10.14674/1120-1770/ijfs.v70>
- 977 Gill, S.S., Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic
978 stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48, 909–930.
979 <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>

- 980 Gomez, M.L.P., Lajolo, F.M., 2008. Ascorbic acid metabolism in fruits: activity of enzymes
981 involved in synthesis and degradation during ripening in mango and guava. *J. Sci. Food*
982 *Agric.* 88, 756–762. <https://doi.org/10.1002/jsfa>
- 983 Grzesik, M., Naparło, K., Bartosz, G., Sadowska-Bartosz, I., 2018b. Antioxidant properties of
984 catechins: Comparison with other antioxidants. *Food Chem.* 241, 480–492.
985 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.117>
- 986 Guimarães, I.C., Dos Reis, K.C., Menezes, E.G.T., Borges, P.R.S., Rodrigues, A.C., Leal, R.,
987 Hernandes, T., De Carvalho, E.H.N., De Barros Vilas Boas, E.V., 2016a. Combined
988 effect of starch/montmorillonite coating and passive MAP in antioxidant activity, total
989 phenolics, organic acids and volatile of fresh-cut carrots. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 67, 141–
990 152. <https://doi.org/10.3109/09637486.2015.1137890>
- 991 Guimarães, I.C., Menezes, E.G.T., Rodrigues, L.F., Rodrigues, A.C., Dias Pinto Monteiro,
992 A.G., Dos Reis, K.C., De Barros Vilas Boas, E.V., 2016b. Filme comestível à base de
993 amido e micro/nanofibrilas de celulose de cenoura prolonga a vida útil de cenoura
994 minimamente processada. *Bol. Cent. Pesqui. Process. Aliment.* 34, 85–110.
995 <https://doi.org/10.5380/cep.v34i1.48989>
- 996 Guimarães, M., Botaro, V.R., Novack, K.M., Teixeira, F.G., Tonoli, G.H.D., 2015.
997 Starch/PVA-based nanocomposites reinforced with bamboo nanofibrils. *Ind. Crops Prod.*
998 70, 72–83. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.014>
- 999 Hammaz, F., Charles, F., Kopec, R.E., Halimi, C., Fgaier, S., Aarouf, J., Urban, L., Borel, P.,
1000 2021. Temperature and storage time increase provitamin A carotenoid concentrations
1001 and bioaccessibility in post-harvest carrots. *Food Chem.* 338, 128004.
1002 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128004>
- 1003 Hasan, S.M.K., Ferrentino, G., Scampicchio, M., 2020. Nanoemulsion as advanced edible
1004 coatings to preserve the quality of fresh-cut fruits and vegetables: a review. *Int. J. Food*
1005 *Sci. Technol.* 55, 1–10. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14273>
- 1006 Hassan, B., Chatha, S.A.S., Hussain, A.I., Zia, K.M., Akhtar, N., 2018. Recent advances on
1007 polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. *Int. J.*
1008 *Biol. Macromol.* 109, 1095–1107. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.097>
- 1009 Hellström, J., Granato, D., Mattila, P.H., 2020. Accumulation of phenolic acids during storage
1010 over differently handled fresh carrots. *Foods* 9. <https://doi.org/10.3390/foods9101515>

- 1011 Jacobo-Velázquez, D.A., Martínez-Hernández, G.B., Del C. Rodríguez, S., Cao, C.M.,
1012 Cisneros-Zevallos, L., 2011. Plants as biofactories: Physiological role of reactive oxygen
1013 species on the accumulation of phenolic antioxidants in carrot tissue under wounding and
1014 hyperoxia stress. *J. Agric. Food Chem.* 59, 6583–6593.
1015 <https://doi.org/10.1021/jf2006529>
- 1016 Jiao, W., Shu, C., Li, X., Cao, J., Fan, X., Jiang, W., 2019. Preparation of a chitosan-
1017 chlorogenic acid conjugate and its application as edible coating in postharvest
1018 preservation of peach fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 154, 129–136.
1019 <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.05.003>
- 1020 Jideani, A.I.O., Anyasi, T.A., Mchau, G.R.A., Udoro, E.O., Onipe, O.O., 2017. Processing
1021 and Preservation of Fresh-Cut Fruit and Vegetable Products. *Postharvest Handl.*
1022 <https://doi.org/10.5772/intechopen.69763>
- 1023 Kornacki, J.L., Gurtler, J.B., Stawick, B.A., 2015. 9. Enterobacteriaceae, Coliforms, and
1024 *Escherichia coli* as Quality and Safety Indicators, in: *Compendium of Methods for the*
1025 *Microbiological Examination of Foods.* American Public Health Association, pp. 69–82.
1026 <https://doi.org/10.2105/mbef.0222.014>
- 1027 Kumar, N., Pruthi, V., 2014. Potential applications of ferulic acid from natural sources.
1028 *Biotechnol. Reports.* <https://doi.org/10.1016/j.btre.2014.09.002>
- 1029 Lago, R.C. do, de Oliveira, A.L.M., Cordasso Dias, M., de Carvalho, E.E.N., Denzin Tonoli,
1030 G.H., de Barros Vilas Boas, E.V., 2020. Obtaining cellulosic nanofibrils from oat straw
1031 for biocomposite reinforcement: Mechanical and barrier properties. *Ind. Crops Prod.*
1032 148. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112264>
- 1033 Lago, R.C. do, Oliveira, A.L.M., Santos, A. de A. dos, Zitha, E.Z.M., Carvalho, E.E.N.,
1034 Tonoli, G.H.D., Vilas Boas, E.V. de B., 2021. Addition of wheat straw nanofibrils to
1035 improve the mechanical and barrier properties of cassava starch – based
1036 bionanocomposites. *Ind. Crop. Prod.* 170, 113816.
1037 <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113816>
- 1038 Lai, T.Y., Chen, C.H., Lai, L.S., 2013. Effects of Tapioca Starch/Decolorized Hsian-Tsao
1039 Leaf Gum-Based Active Coatings on the Quality of Minimally Processed Carrots. *Food*
1040 *Bioprocess Technol.* 6, 249–258. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0707-3>
- 1041 Li, H., Liu, J.X., Wang, Y., Zhuang, J., 2020. The ascorbate peroxidase 1 regulates ascorbic

- 1042 acid metabolism in fresh-cut leaves of tea plant during postharvest storage under
1043 light/dark conditions. *Plant Sci.* 296, 110500.
1044 <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110500>
- 1045 Li, L., Li, C., Sun, J., Xin, M., Yi, P., He, X., Sheng, J., Zhou, Z., Ling, D., Zheng, F., Li, J.,
1046 Liu, G., Li, Z., Tang, Y., Yang, Y., Tang, J., 2021. Synergistic effects of ultraviolet light
1047 irradiation and high-oxygen modified atmosphere packaging on physiological quality,
1048 microbial growth and lignification metabolism of fresh-cut carrots. *Postharvest Biol.*
1049 *Technol.* 173. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111365>
- 1050 Liu, W., Zhang, M., Bhandari, B., 2020. Nanotechnology—A shelf life extension strategy for
1051 fruits and vegetables. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*
1052 <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1589415>
- 1053 Lozovaya, V., Gorshkova, T., Yablokova, E., Zabolina, O., Ageeva, M., Rummyantseva, N.,
1054 Kolesnichenko, E., Waranyuwat, A., Widholm, J., 1996. Callus cell wall phenolics and
1055 plant regeneration ability. *J. Plant Physiol.* 148, 711–717. [https://doi.org/10.1016/S0176-](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(96)80373-7)
1056 [1617\(96\)80373-7](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(96)80373-7)
- 1057 Marchiosi, R., dos Santos, W.D., Constantin, R.P., de Lima, R.B., Soares, A.R., Finger-
1058 Teixeira, A., Mota, T.R., de Oliveira, D.M., Foletto-Felipe, M. de P., Abrahão, J.,
1059 Ferrarese-Filho, O., 2020. Biosynthesis and metabolic actions of simple phenolic acids in
1060 plants, *Phytochemistry Reviews*. <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09689-2>
- 1061 Martínez, J.M., Delso, C., Angulo, J., Álvarez, I., Raso, J., 2018. Pulsed electric field-assisted
1062 extraction of carotenoids from fresh biomass of *Rhodotorula glutinis*. *Innov. Food Sci.*
1063 *Emerg. Technol.* 47, 421–427. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.04.012>
- 1064 McCready, R., McComb, E., 1952. Extraction and Determination of Total Pectic Materials in
1065 Fruits. *Anal. Chem.* 24. <https://doi.org/10.1021/ac60072a033>
- 1066 Medina, M.B., 2011. Simple and rapid method for the analysis of phenolic compounds in
1067 beverages and grains. *J. Agric. Food Chem.* 59, 1565–1571.
1068 <https://doi.org/10.1021/jf103711c>
- 1069 Muir, R.M., Ibáñez, A.M., Uratsu, S.L., Ingham, E.S., Leslie, C.A., McGranahan, G.H.,
1070 Batra, N., Goyal, S., Joseph, J., Jemmis, E.D., Dandekar, A.M., 2011. Mechanism of
1071 gallic acid biosynthesis in bacteria (*Escherichia coli*) and walnut (*Juglans regia*). *Plant*
1072 *Mol. Biol.* 75, 555–565. <https://doi.org/10.1007/s11103-011-9739-3>

- 1073 Muley, A.B., Singhal, R.S., 2020. Extension of postharvest shelf life of strawberries (*Fragaria*
1074 *ananassa*) using a coating of chitosan-whey protein isolate conjugate. *Food Chem.* 329,
1075 127213. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127213>
- 1076 Odoch, M., Buys, E.M., Taylor, J.R.N., 2021. Effects of vacuum packaging storage of
1077 minimally processed cassava roots at various temperatures on microflora, tissue
1078 structure, starch extraction by wet milling and granule quality. *J. Sci. Food Agric.* n/a.
1079 <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jsfa.11305>
- 1080 Passos, L.P., Miranda, A.L.D.S., Marques, D.R.P., Oliveira, I.R.N. de, 2017. Aspectos
1081 Microbiológicos De Cenouras Minimamente Processadas E Armazenadas Em Diferentes
1082 Embalagens Sob-Refrigeração. *J. Eng. Exact Sci.* 3, 0829–0834.
1083 <https://doi.org/10.18540/jcecv13iss6pp0829-0834>
- 1084 Payasi, A., Nath Mishra, N., Lucia Soares Chaves, A., Singh, R., 2009. Biochemistry of fruit
1085 softening : an overview, *Physiol. Mol. Biol. Plants.*
- 1086 Prakash, A., Baskaran, R., Paramasivam, N., Vadivel, V., 2018. Essential oil based
1087 nanoemulsions to improve the microbial quality of minimally processed fruits and
1088 vegetables: A review. *Food Res. Int.* 111, 509–523.
1089 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.066>
- 1090 Qadri, O.S., Yousuf, B., Srivastava, A.K., 2015. Fresh-cut fruits and vegetables: Critical
1091 factors influencing microbiology and novel approaches to prevent microbial risks—A
1092 review. *Cogent Food Agric.* 1, 1121606.
1093 <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1121606>
- 1094 Rajinipriya, M., Nagalakshmaiah, M., Robert, M., Elkoun, S., 2018. Importance of
1095 Agricultural and Industrial Waste in the Field of Nanocellulose and Recent Industrial
1096 Developments of Wood Based Nanocellulose: A Review. *ACS Sustain. Chem. Eng.* 6,
1097 2807–2828. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b03437>
- 1098 Ramos, M., Mellinas, C., Solaberrieta, I., Garrigós, M.C., Jiménez, A., 2021. Emulsions
1099 Incorporated in Polysaccharide-Based Active Coatings for Fresh and Minimally
1100 Processed Vegetables. *Foods (Basel, Switzerland)* 10.
1101 <https://doi.org/10.3390/foods10030665>
- 1102 Ranjitha, K., Sudhakar Rao, D. V., Shivashankara, K.S., Oberoi, H.S., Roy, T.K.,
1103 Bharathamma, H., 2017. Shelf-life extension and quality retention in fresh-cut carrots

- 1104 coated with pectin. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 42, 91–100.
1105 <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.05.013>
- 1106 Rodríguez-Amaya, D.B., 2001. *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods, Life Sciences.*
- 1107 Rodríguez-Bencomo, J.J., Kelebek, H., Sonmezdag, A.S., Rodríguez-Alcalá, L.M., Fontecha,
1108 J., Selli, S., 2015. Characterization of the Aroma-Active, Phenolic, and Lipid Profiles of
1109 the Pistachio (*Pistacia vera* L.) Nut as Affected by the Single and Double Roasting
1110 Process. *J. Agric. Food Chem.* 63, 7830–7839. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02576>
- 1111 RStudio Team, 2015. RStudio | Open source & professional software for data science
1112 teams. RStudio.
- 1113 Ryu, D., Wolf-Hall, C., 2015. 21. Yeasts and Molds, in: *Compendium of Methods for the*
1114 *Microbiological Examination of Foods.* <https://doi.org/10.2105/MBEF.0222.026>
- 1115 Santosa, Mislaini, Hasan, A., Umam, K., 2016. Influence of temperature and blanching
1116 duration on quality of minimally processed carrot (*Daucus carota*, l.) during freeze
1117 storage. *Int. Food Res. J.* 23, S119–S123.
- 1118 Sénéchal, F., Wattier, C., Rustérucci, C., Pelloux, J., 2014. Homogalacturonan-modifying
1119 enzymes: Structure, expression, and roles in plants. *J. Exp. Bot.* 65, 5125–5160.
1120 <https://doi.org/10.1093/jxb/eru272>
- 1121 Sharma, P., Kehinde, B.A., Kaur, S., Vyas, P., 2019. Application of edible coatings on fresh
1122 and minimally processed fruits: a review. *Nutr. Food Sci.* 49, 713–738.
1123 <https://doi.org/10.1108/NFS-08-2018-0246>
- 1124 Sharma, S., Bandra, J.D., Sood, M., Gupta, N., Mir, A.A., 2018. Effect of Minimal Processing
1125 and Packaging on Physico Chemical Composition of Carrots (*Daucus carota*). *Int. J.*
1126 *Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 7, 3301–3312. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.705.386>
- 1127 Shigematsu, E., Dorta, C., Rodrigues, F.J., Cedran, M.F., Giannoni, J.A., Oshiiwa, M.,
1128 Mauro, M.A., 2018. Edible coating with probiotic as a quality factor for minimally
1129 processed carrots. *J. Food Sci. Technol.* 55, 3712–3720. [https://doi.org/10.1007/s13197-](https://doi.org/10.1007/s13197-018-3301-0)
1130 [018-3301-0](https://doi.org/10.1007/s13197-018-3301-0)
- 1131 Silva, N., Junqueira, V.C.A., de Arruda Silveira, N.F., Taniwaki, M.H., Gomes, R.A.R.,
1132 Okazaki, M.M., 2017. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e*
1133 *água.* Editora Blucher.

- 1134 Simões, A.D.N., Tudela, J.A., Allende, A., Puschmann, R., Gil, M.I., 2009. Edible coatings
1135 containing chitosan and moderate modified atmospheres maintain quality and enhance
1136 phytochemicals of carrot sticks. *Postharvest Biol. Technol.* 51, 364–370.
1137 <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.08.012>
- 1138 Song, Z., Li, F., Guan, H., Xu, Y., Fu, Q., Li, D., 2017. Combination of nisin and ϵ -polylysine
1139 with chitosan coating inhibits the white blush of fresh-cut carrots. *Food Control* 74, 34–
1140 44. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.11.026>
- 1141 Surjadinata, B.B., Cisneros-Zevallos, L., 2012. Biosynthesis of phenolic antioxidants in carrot
1142 tissue increases with wounding intensity. *Food Chem.* 134, 615–624.
1143 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.097>
- 1144 Tavassoli-Kafrani, E., Gamage, M.V., Dumée, L.F., Kong, L., Zhao, S., 2020. Edible films
1145 and coatings for shelf life extension of mango: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 0, 1–
1146 29. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1853038>
- 1147 Thakur, R., Pristijono, P., Scarlett, C.J., Bowyer, M., Singh, S.P., Vuong, Q. V., 2019. Starch-
1148 based films: Major factors affecting their properties. *Int. J. Biol. Macromol.* 132, 1079–
1149 1089. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.190>
- 1150 United States Department of Agriculture (USDA), 2017. Notice of Change Chapter new ,
1151 revised , or archived : MLG 4 Appendix 2 . 02 Title : Flow Chart Specific for FSIS
1152 Laboratory Salmonella Analysis Description and purpose of change (s) : This flow chart
1153 was issued in association with MLG 4 . 08 Isolation a, in: *Microrbiology Laboratory*
1154 *Guidebook*.
- 1155 Verma, C., R.K, S., Singh, R.B., Mishra, S., 2015. Biochemical and In-silico Studies on
1156 Pectin Methylesterase from G9 Variety of *Musa acuminata* for Delayed Ripening. *Open*
1157 *Biochem. J.* 9, 15–23. <https://doi.org/10.2174/1874091x01509010015>
- 1158 Villafaña, F., 2017. Edible coatings for carrots. *Food Rev. Int.* 33, 84–103.
1159 <https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1150291>
- 1160 Wang, G.L., Xu, Z.S., Wang, F., Li, M.Y., Tan, G.F., Xiong, A.S., 2015. Regulation of
1161 ascorbic acid biosynthesis and recycling during root development in carrot (*Daucus*
1162 *carota* L.). *Plant Physiol. Biochem.* 94, 10–18.
1163 <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.04.014>

- 1164 Wang, H., Fang, X.M., Sutar, P.P., Meng, J.S., Wang, J., Yu, X.L., Xiao, H.W., 2021. Effects
1165 of vacuum-steam pulsed blanching on drying kinetics, colour, phytochemical contents,
1166 antioxidant capacity of carrot and the mechanism of carrot quality changes revealed by
1167 texture, microstructure and ultrastructure. *Food Chem.* 338, 127799.
1168 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127799>
- 1169 Wang, K., Li, T., Chen, S., Li, Y., Rashid, A., 2020. The biochemical and molecular
1170 mechanisms of softening inhibition by chitosan coating in strawberry fruit (*Fragaria x*
1171 *ananassa*) during cold storage. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 271, 109483.
1172 <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109483>
- 1173 Wang, X., Kong, D., Ma, Z., Zhao, R., 2015. Effect of carrot puree edible films on quality
1174 preservation of fresh-cut carrots. *Irish J. Agric. Food Res.* 54, 64–71.
1175 <https://doi.org/10.1515/ijafr-2015-0007>
- 1176 Xu, K., Shi, Z., Lyu, J., Zhang, Q., Zhong, T., Du, G., Wang, S., 2020. Effects of
1177 hydrothermal pretreatment on nano-mechanical property of switchgrass cell wall and on
1178 energy consumption of isolated lignin-coated cellulose nanofibrils by mechanical
1179 grinding. *Ind. Crops Prod.* 149, 112317. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112317>
- 1180 Xylia, P., Clark, A., Chrysagyris, A., Romanazzi, G., Tzortzakis, N., 2019. Quality and
1181 safety attributes on shredded carrots by using *Origanum majorana* and ascorbic acid.
1182 *Postharvest Biol. Technol.* 155, 120–129.
1183 <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.05.015>
- 1184 Yousuf, B., Qadri, O.S., Srivastava, A.K., 2018. Recent developments in shelf-life extension
1185 of fresh-cut fruits and vegetables by application of different edible coatings: A review.
1186 *LWT - Food Sci. Technol.* 89, 198–209. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.051>
- 1187 Zielinska, M., Markowski, M., 2012. *International Journal of Food Properties* Color
1188 Characteristics of Carrots: Effect of Drying and Rehydration.
1189 <https://doi.org/10.1080/10942912.2010.489209>
- 1190 Zitha, E.Z.M., Beatriz, A., Araújo, S., Machado, S., Helena, H., Elias, D.S., Elena, E.,
1191 Carvalho, N., Valério, E., Vilas, D.B., 2021. Impact of processing and packages on
1192 bioactive compounds and antioxidant activity of Mangaba Jelly 2061, 1–10.
1193

1194 **Tabela 1**1195 *PCA loadings*

Variable	PC1	PC2
CO₂	0.90*	0.09
RR	-0.08	0.49*
ML	0.77*	0.33
TA	0.84*	-0.01
pH	-0.44	-0.61*
SS	0.89*	0.09
RS	0.85*	0.02
L* center	0.57	-0.69*
L* side	0.96*	-0.23
IE center	0.94*	-0.29
IE side	0.60	-0.69*
hue center	-0.75*	0.55*
C* center	0.28	0.73*
C* side	-0.02	0.74*
Carotenoids	0.42	-0.30
Firmness center	0.05	0.27
Firmness side	0.20	-0.25
PME	-0.89*	-0.15
PG	0.87*	0.20
SP	0.15	0.59*
Ascorbic acid	-0.16	0.52*
AA FRAP	0.63	0.21
TP	0.89*	-0.02
Gallic acid	0.82*	0.26
Catechin	-0.92*	-0.20
Chlorogenic acid	0.82*	0.26
Vanillin	0.35	-0.14
Ferulic acid	0.49	0.22
o-coumaric acid	0.76*	0.18
Caffeic acid	0.55	-0.38

1196 Médias marcadas com * indicam correlação significativa com PC ($p < 0.05$). RR: respiration
 1197 rate; ML: *mass loss*; TA: *titratable acidity*; SS: *soluble solids*; RS: *reducing sugars*; WI:
 1198 *whiteness index*; SP: *soluble pectin*; PG: *poligalacturonase*; PME: *pectinametilsterase*; AA
 1199 FRAP: *antioxidant activity FRAP method*; TP: *total phenolics*.

1200

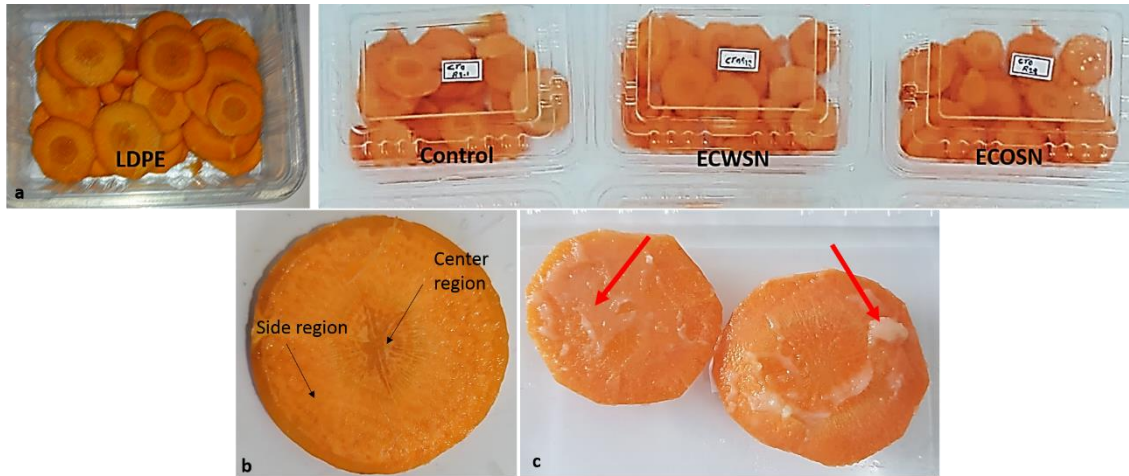
1201

1202

1203

1204

1205



1206

1207 **Fig. 1.** (a) Cenouras minimamente processadas em diferentes embalagens/revestimentos; (b)
1208 Diferentes regiões da fatia de cenoura avaliadas nos parâmetros de coloração e firmeza; (c)
1209 Fatias de cenoura com excessos de solução filmogênica ao 7º dia de armazenamento. LDPE:
1210 *Low density polyethylene*; ECWSN: *Edible coating with wheat straw nanofibrils*; ECOSN:
1211 *Edible coating with Oat straw nanofibrils*.

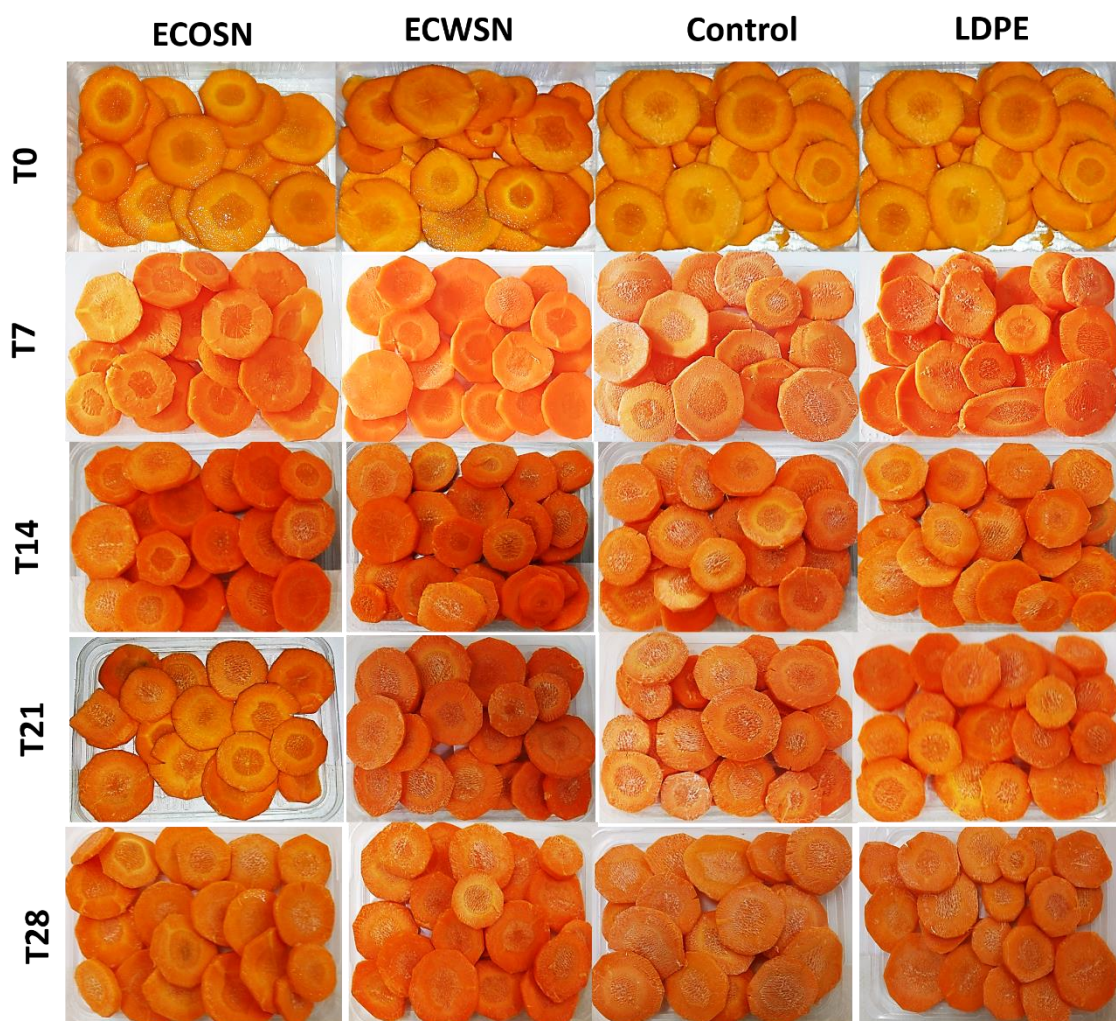
1212

1213

1214

1215

1216



1217

1218 **Fig. 2.** Cenouras minimamente processadas armazenadas em diferentes embalagens nos tempos
1219 de armazenamento 0 (T0), 7 (T7), 14 (T14), 21 (T21) e 28 (T28) dias. ECOSN: *Edible coating*
1220 *with oat straw nanofibrils*; ECWSN: *Edible coating with wheat straw nanofibrils*; LDPE: *Low*
1221 *density polyethylene*.

1222

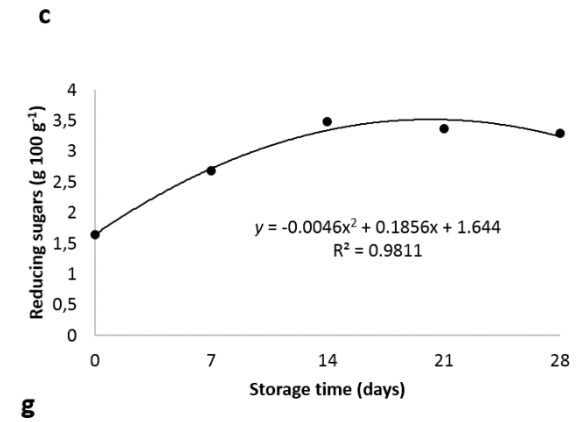
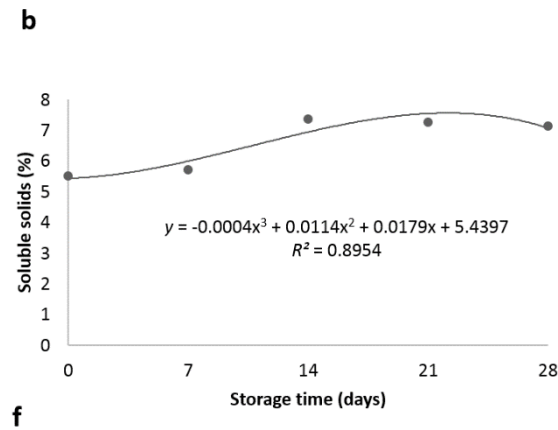
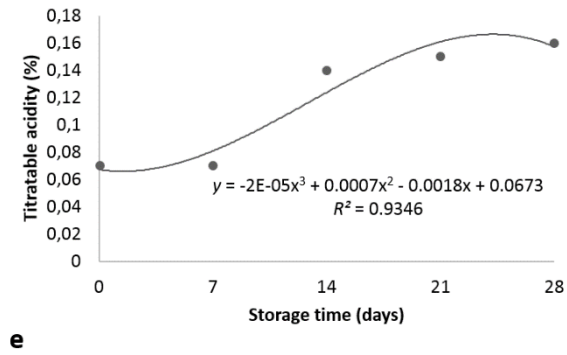
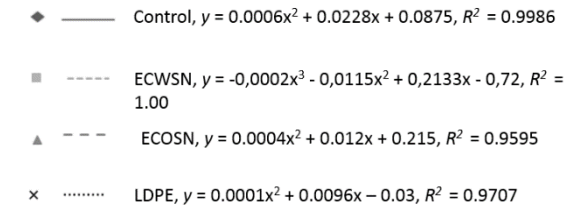
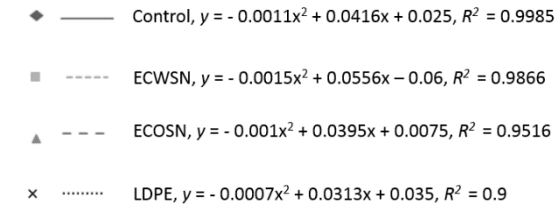
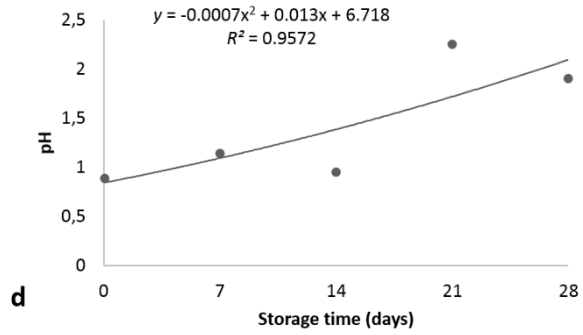
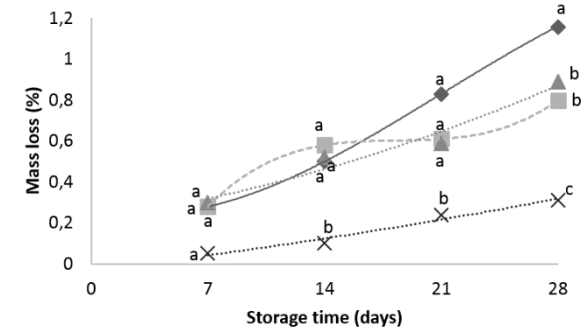
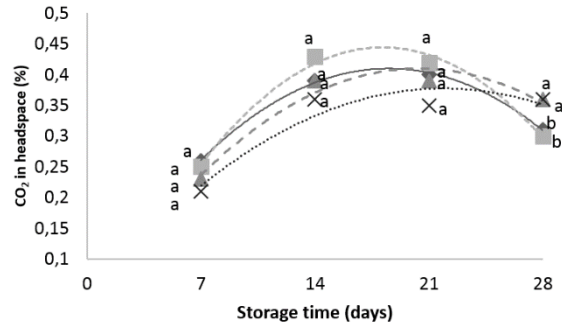
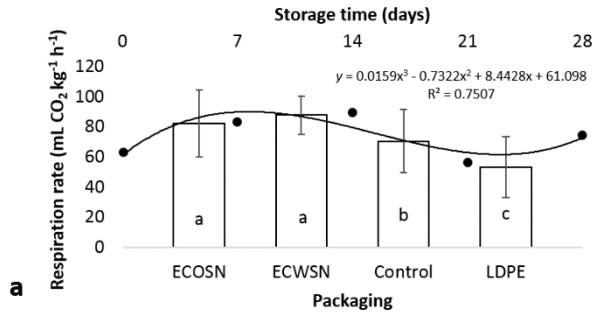
1223

1224

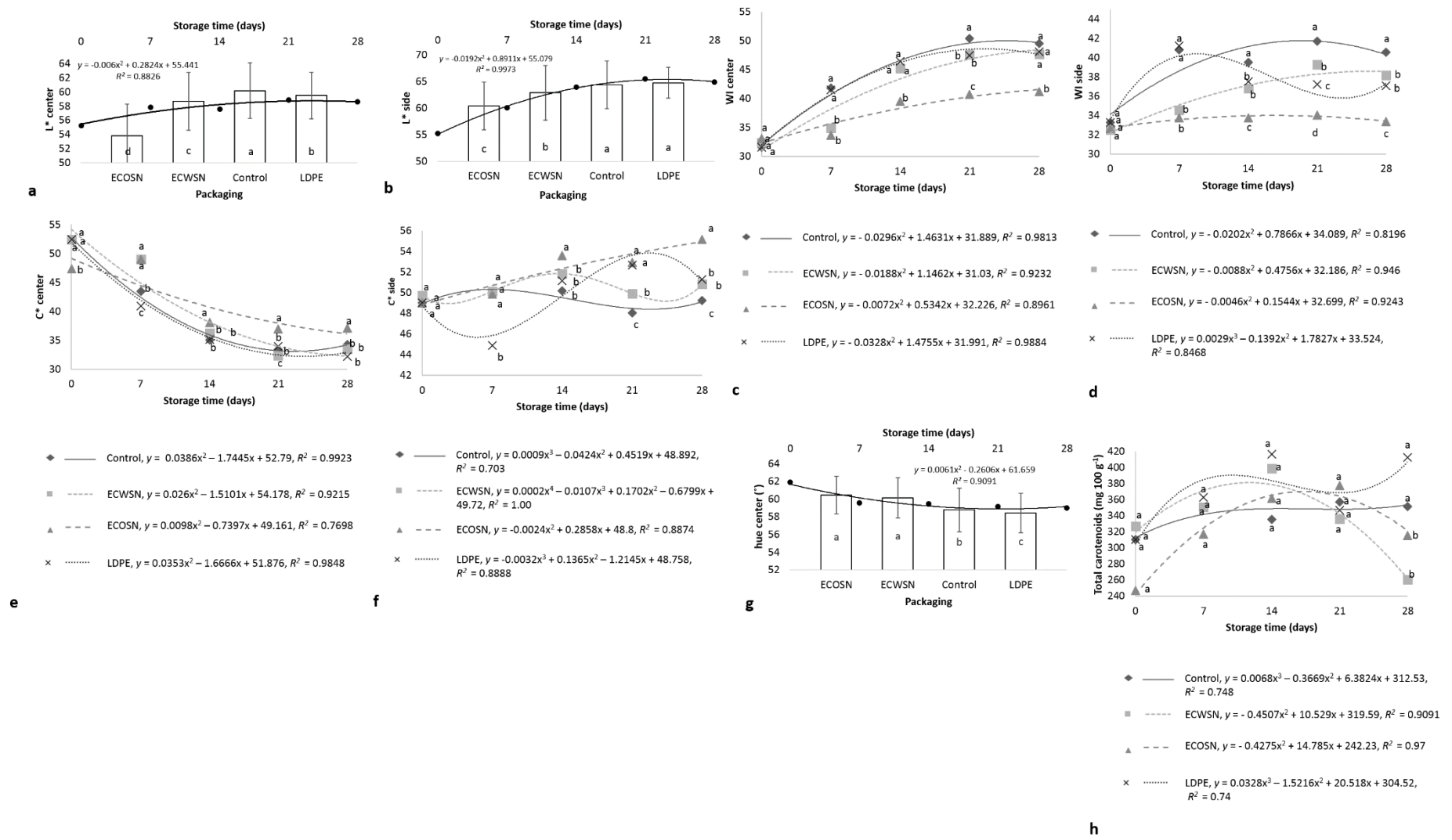
1225

1226

1227



1229 **Fig. 3.** Gráficos de barra e gráficos de regressão polinomial para as variáveis taxa respiratória (a), CO₂ no *headspace* (b), perda de massa (c), pH
1230 (d), acidez titulável (e), sólidos solúveis (f) e açúcares (g) de cenouras minimamente processadas em diferentes tipos de embalagens armazenados
1231 a 5°C por 28 dias. ECOSN: *edible coating with oat straw nanofibrils*; ECWSN: *edible coating with wheat straw nanofibrils*; LDPE: *Low density*
1232 *polyethylene*. Barras de erros nos gráficos de barras indicam os valores de desvio-padrão. Tratamentos seguidos das mesmas letras, no mesmo
1233 tempo de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 0.05% de significância.

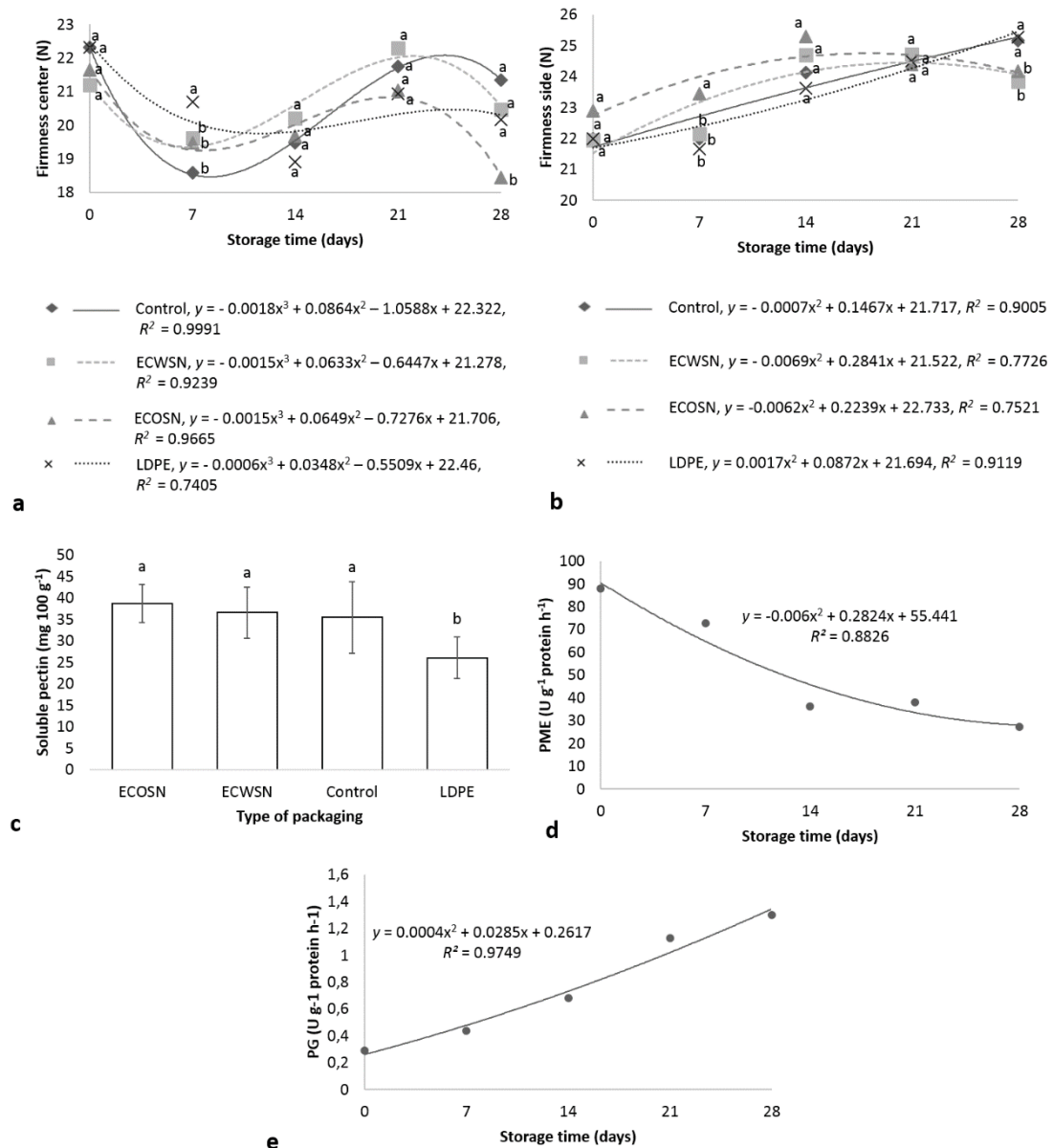


1235 **Fig. 4** Gráficos de barra e gráficos de regressão polinomial para os parâmetros de coloração e teor de carotenoides de cenouras minimamente
1236 processadas em diferentes tipos de embalagens armazenados a 5°C por 28 dias. ECOSN: *edible coating with oat straw nanofibrils*; ECWSN: *edible*
1237 *coating with wheat straw nanofibrils*; LDPE: *Low density polyethylene*. Barras de erros nos gráficos de barras indicam os valores de desvio-padrão.
1238 Tratamentos seguidos das mesmas letras, no mesmo tempo de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 0.05% de
1239 significância.

1240

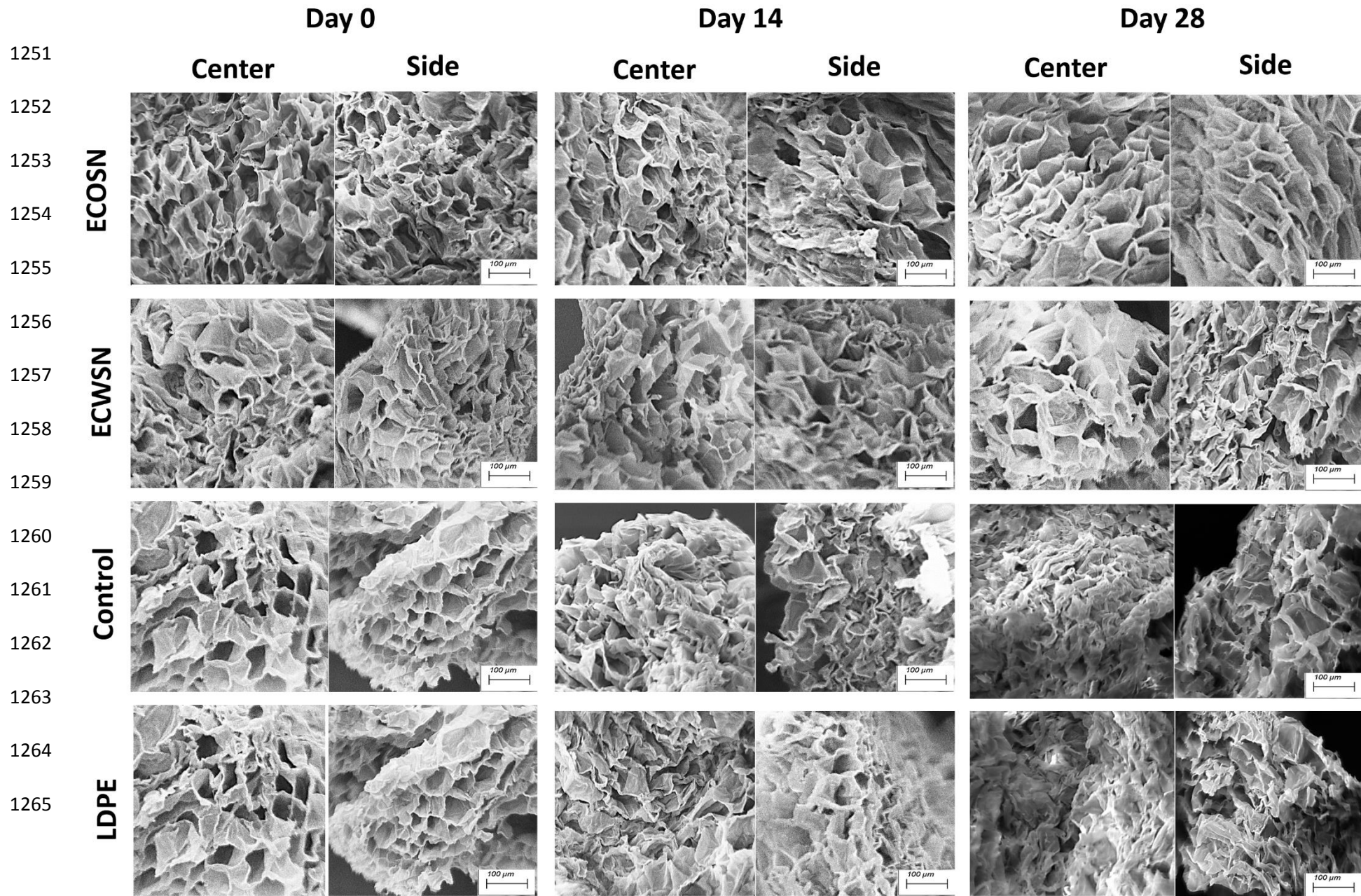
1241

1242

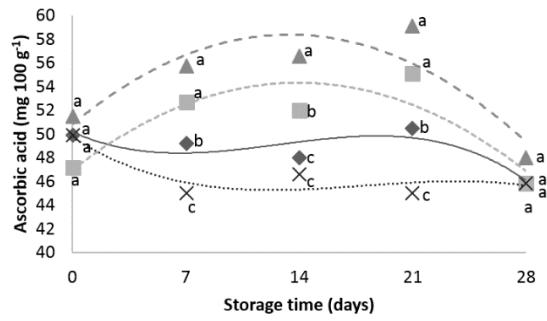


1243

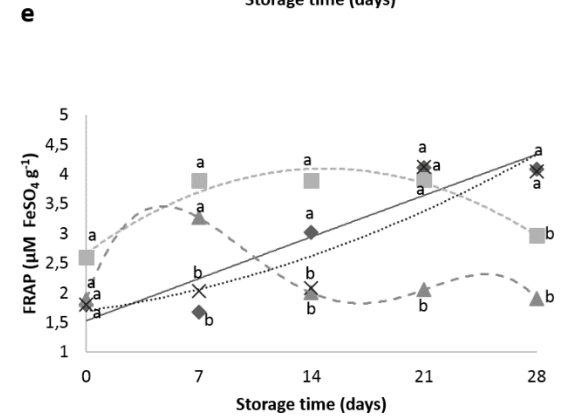
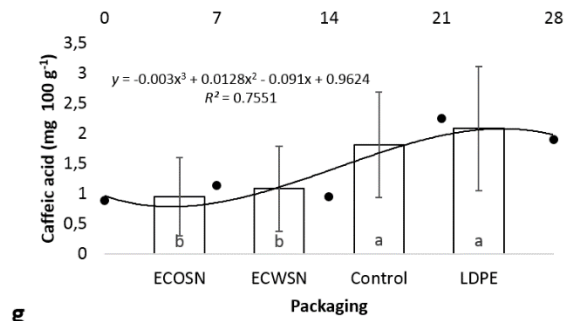
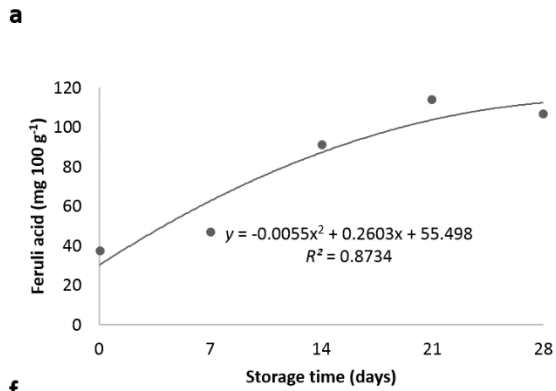
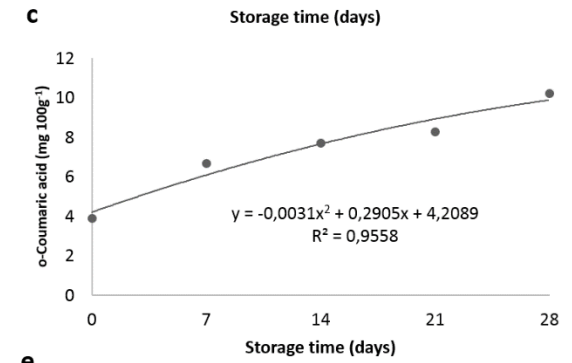
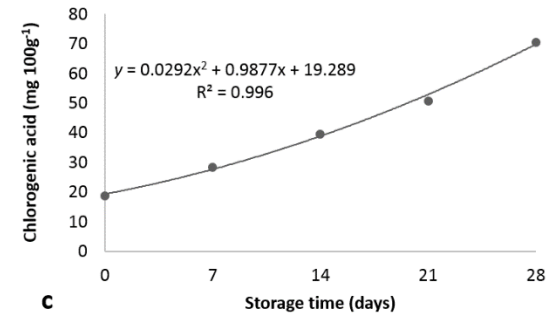
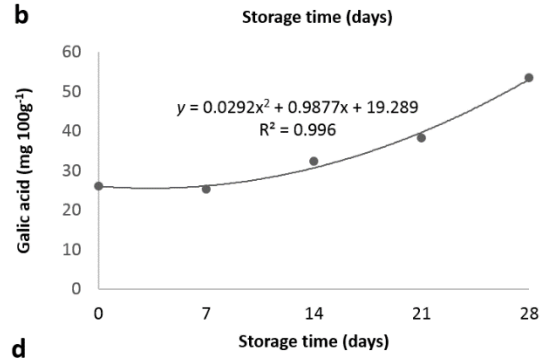
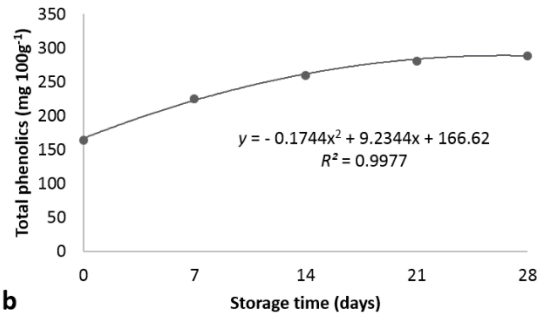
1244 **Fig. 5.** Gráficos de barra e gráficos de regressão polinomial para os parâmetros
 1245 relacionados à textura de cenouras minimamente processadas em diferentes tipos de
 1246 embalagens armazenados a 5°C por 28 dias. ECOSN: *edible coating with oat straw*
 1247 *nanofibrils*; ECWSN: *edible coating with wheat straw nanofibrils*; LDPE: *Low density*
 1248 *polyethylene*. Barras de erros nos gráficos de barras indicam os valores de desvio-padrão.
 1249 Tratamentos seguidos das mesmas letras, no mesmo tempo de armazenamento, não
 1250 diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 0.05% de significância.



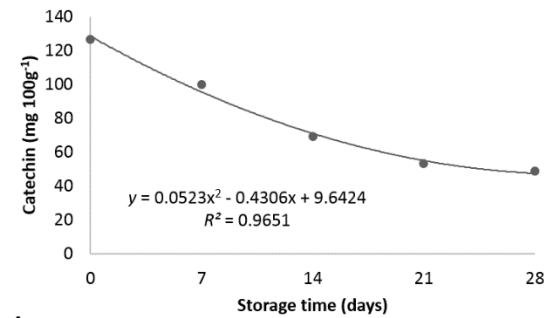
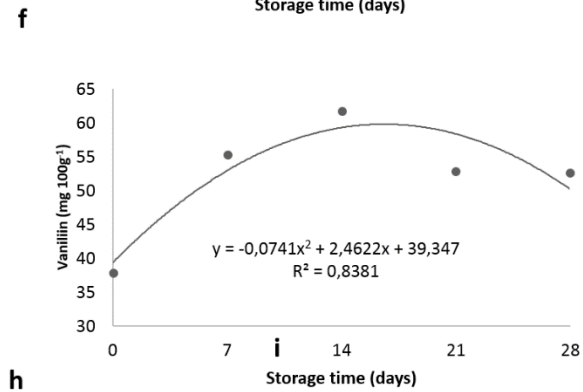
1266 **Fig. 6.** Micrografias obtidas em MEV para as regiões central e lateral de cenouras minimamente processadas em diferentes tipos de embalagens
1267 armazenados a 5°C aos 0, 14 e 28 dias. ECOSN: *edible coating with oat straw nanofibrils*; ECWSN: *edible coating with wheat straw nanofibrils*;
1268 LDPE: *Low density polyethylene*. Magnificação 350 x.



◆ Control, $y = -0.0016x^3 + 0.0616x^2 - 0.6059x + 50.177$, $R^2 = 0.7593$
 ■ ECWSN, $y = -0.0378x^2 + 1.0553x + 46.97$, $R^2 = 0.7778$
 ▲ ECOSN, $y = -0.0423x^2 + 1.1322x + 50.816$, $R^2 = 0.7866$
 × LDPE, $y = -0.001x^3 + 0.0538x^2 - 0.8739x + 49.737$, $R^2 = 0.7915$



◆ Control, $y = -6E-05x^2 + 0.1019x + 1.5283$, $R^2 = 0.8784$
 ■ ECWSN, $y = -0.0065x^2 + 0.1929x + 2.6649$, $R^2 = 0.9475$
 ▲ ECOSN, $y = -1E-04x^4 + 0.0059x^3 - 0.1189x^2 + 0.7715x + 1.89$, $R^2 = 1.00$
 × LDPE, $y = 0.002x^2 + 0.038x + 1.6951$, $R^2 = 0.8256$



j

1270 **Fig. 7.** Gráficos de barra e gráficos de regressão polinomial para o teor de ácido ascórbico, fenólicos totais, perfil de fenólicos e atividade
1271 antioxidante de cenouras minimamente processadas em diferentes tipos de embalagens armazenados a 5°C por 28 dias. ECOSN: *edible coating*
1272 *with oat straw nanofibrils*; ECWSN: *edible coating with wheat straw nanofibrils*; LDPE: *Low density polyethylene*. Barras de erros nos gráficos
1273 de barras indicam os valores de desvio-padrão. Tratamentos seguidos das mesmas letras, no mesmo tempo de armazenamento, não diferem entre
1274 si pelo teste de Scott Knott a 0.05% de significância.

1275

1276

1277

1278

1279

1280

1281

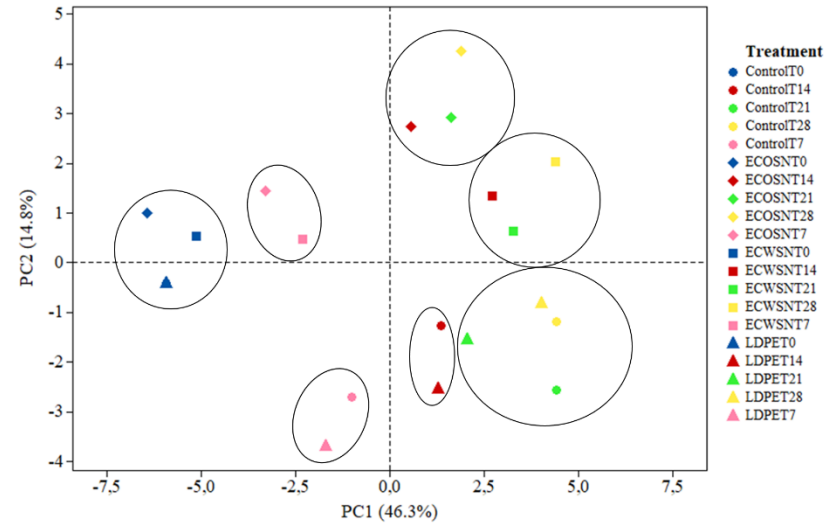
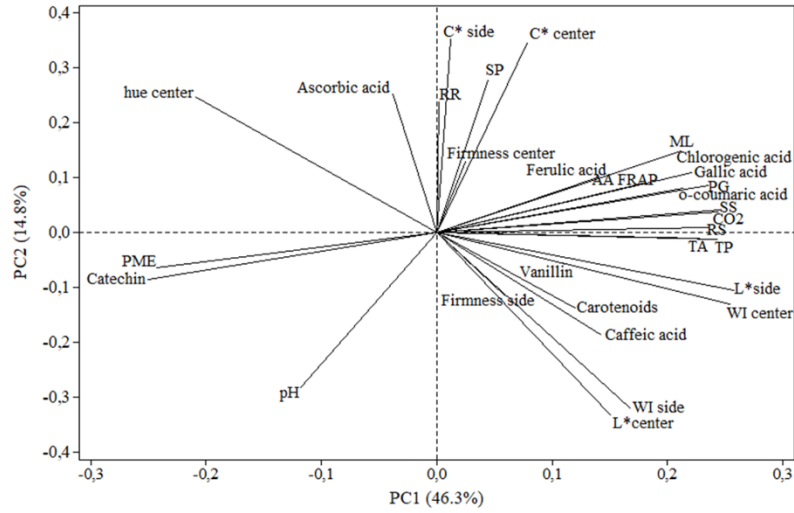
1282

1283

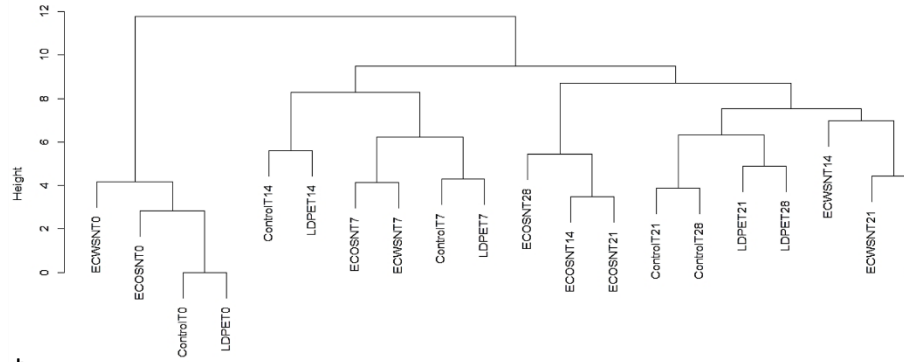
1284

1285

1286



a



b

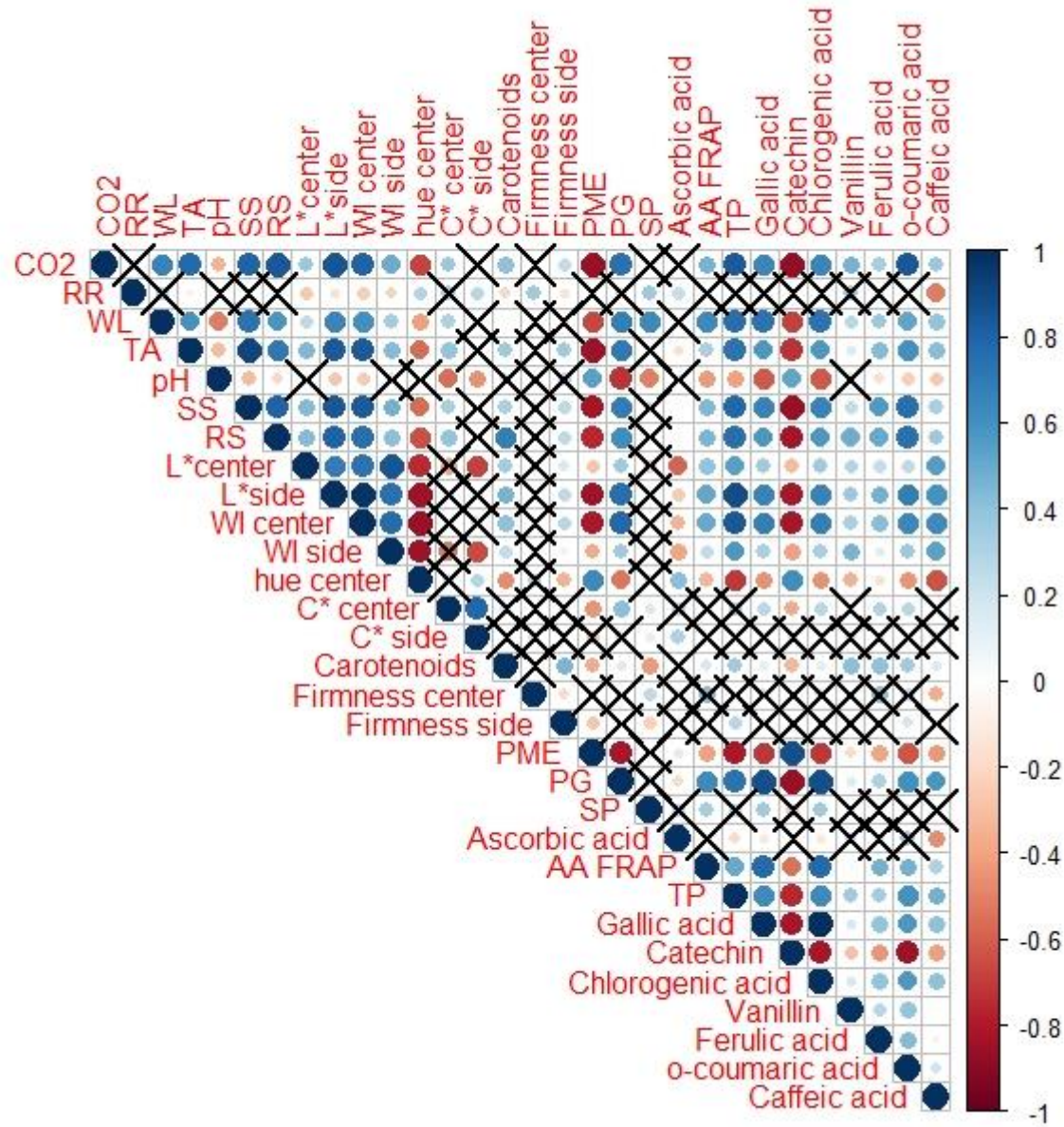
1287

1288 **Fig. 8.** Análise de componentes principais (PCA) (a) e clusterização hierárquica (b) das variáveis avaliadas em cenouras minimamente processadas
1289 em diferentes tipos de embalagens armazenados a 5°C por 28 dias. Tratamentos circulos no gráfico de PCA correspondem aos principais
1290 subgrupos formados na análise de clusterização hierárquica. RR: *respiration rate*; WL: *weight loss*; TA: *titratable acidity*; SS: *soluble solids*; RS:
1291 *reducing sugars*; WI: *whiteness index*; SP: *soluble pectin*; PG: poligalacturonase; PME: pectinametilesterase; AA FRAP: *antioxidant activity FRAP*
1292 *method*; TP: *total phenolics*; ECOSN: *edible coating with oat straw nanofibrils*; ECWSN: *edible coating with wheat straw nanofibrils*. LDPE: *Low*
1293 *density polyethylene*.

1294

1295

1296



1298 **Fig. 9.** Gráfico de correlação para as variáveis avaliadas cenouras minimamente processadas em diferentes tipos de embalagens armazenados a 5°C
1299 por 28 dias. RR: *respiration rate*; WL: *weight loss*; TA: *titratable acidity*; SS: *soluble solids*; RS: *reducing sugars*; WI: *whiteness index*; SP:
1300 *soluble pectin*; PG: poligalacturonase; PME: pectinametilesterase; AA FRAP: *antioxidant activity FRAP method*; TP: *total phenolics*. O tamanho
1301 das esferas e a intensidade da coloração são proporcionais ao grau de correlação. Áreas marcadas com X indicam ausência de correlação
1302 significativa ($p > 0.05$).